

# ИЗВЕСТИЯ

ТИМИРЯЗЕВСКОЙ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ  
АКАДЕМИИ

Научно–теоретический журнал  
Российского государственного аграрного университета —  
МСХА имени К.А. Тимирязева

Сообщаются результаты экспериментальных, теоретических и методических исследований в различных областях сельскохозяйственной науки и практики, выполненных в разных природно–экономических зонах страны

Основан в 1878 году  
6 номеров в год

Выпуск

**6**

ноябрь–декабрь

Москва  
Издательство РГАУ-МСХА  
2022

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР: д.с.-х.н., д.э.н., академик РАН, проф. **В.И. Трухачев**

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

д.с.-х.н., профессор **С.Л. Белопухов**; профессор **Р. Валентини** (Италия);  
д.б.н., профессор **И.И. Васенев**; д.э.н., профессор **Р.С. Гайсин**;  
д.э.н., профессор **А.В. Голубев**; д.с.-х.н., профессор **С.А. Грикшас**;  
д.с.-х.н., профессор **Ж. Данаилов**; д.б.н., профессор **Ф.С. Джалилов**;  
профессор **Д.А. Джукич** (Сербия); д.с.-х.н., профессор, академик РАН **Н.Н. Дубенок**;  
д.в.н., профессор **Г.П. Дюльгер**; д.б.н., профессор **А.А. Иванов**;  
д.б.н., профессор, академик РАН **В.И. Кирюшин**; д.б.н., профессор **В.Н. Корзун** (Германия);  
д.в.н., профессор **Р.Т. Кузьмич** (Беларусь); д.б.н., профессор **Я.В. Кузяков** (Германия);  
д.с.-х.н., профессор **Н.Н. Лазарев**; д.с.-х.н., профессор **В.И. Леунов**;  
д.с.-х.н., профессор, академик РАН **В.М. Лукомец**;  
д.б.н., профессор, академик НАНУ и НААНУ **Д.А. Мельничук** (Украина);  
к.э.н., PhD MSU, **Р.А. Мигунов**; к.с.-х.н. **Г.Ф. Монахос**; д.с.-х.н., доцент **С.Г. Монахос**;  
д.б.н., профессор **В.Д. Наумов**; д.т.н., профессор, академик РАН **В.А. Панфилов**;  
д.б.н., профессор **С.Я. Попов**; д.х.н., профессор **Н.М. Пржевальский**;  
д.с.-х.н., профессор **А.К. Раджабов**; д.с.-х.н., профессор **Г.В. Родионов**;  
д.б.н., профессор **В.С. Рубец**; д.э.н., профессор, чл.-корр. РАН **Н.М. Светлов**;  
к.б.н., доцент **О.В. Селицкая**; д.б.н., профессор **А.А. Соловьев**;  
д.б.н., профессор **И.Г. Тараканов**; д.б.н., профессор **С.П. Торшин**;  
д.в.н., профессор **С.В. Федотов**; д.б.н., профессор **Л.И. Хрусталева**;  
д.с.-х.н., д.э.н., доцент **В.П. Чайка**; профессор **В.А. Черников**;  
д.т.н., профессор **И.Н. Шило** (Беларусь); д.с.-х.н., профессор **А.С. Шуваринов**;  
д.с.-х.н., профессор, академик РАН **Ю.А. Юлдашбаев**

*Редакция*

Научный редактор – **Р.А. Мигунов**

Редактор – **В.И. Марковская**

Перевод на английский язык – **Н.А. Сергеева**

Компьютерная верстка – **А.С. Лаврова**

Журнал входит в перечень  
ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК

Журнал включен в базу данных AGRIS  
и в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ)

Правила оформления научных статей для опубликования в журнале «Известия ТСХА»  
размещены в Интернете (<https://www.timacad.ru/about/struktura-universiteta/izdaniia/zhurnal-izvestiia-tskha>)

Плата с аспирантов за публикацию статей не взимается

ISSN 0021-342X

# IZVESTIYA

of

Timiryazev Agricultural Academy

Scientific–theoretical Journal  
of Russian Timiryazev State Agrarian University

Results of experimental, theoretical and methodical investigations  
into different spheres of agricultural science and practice  
carried out in various natural–economic zones  
of the country are published in the journal

Founded in 1878  
6 issues per year

Issue

**6**

November–December

Moscow  
Publishing house of Russian Timiryazev State Agrarian University  
2022

EDITOR-IN-CHIEF: Prof. **Vladimir I. Trukhachev**, Dr. of Economics,  
Dr. of Agricultural sciences, Member of RAS

#### EDITORIAL BOARD

Prof. **Sergei L. Belopukhov**, DSc (Ag); **R. Valentini**, Professor Italy;  
Prof. **Ivan I. Vasenev**, DSc (Bio); Prof. **Rafkat S. Gaysin**, DSc (Econ);  
Prof. **Aleksei V. Golubev**, DSc (Econ); Prof. **S.A. Grikshas**, DSc (Ag);  
Prof. **Zh. Danailov**, DSc (Ag) Bulgaria; Prof. **F.S. Dzhaliyov**, DSc (Bio); Prof. **D.A. Djukic**, Serbia;  
Prof. **N.N. Dubenok**, DSc (Ag), Member of the Russian Academy of Sciences;  
Prof. **G.P. Dulger**, DSc (Vet); Prof. **A.A. Ivanov**, DSc (Bio);  
Prof. **V.I. Kiryushin**, DSc (Bio), Member of the Russian Academy of Sciences;  
Prof. **V.N. Korzun**, DSc (Bio), Germany; Prof. **R.T. Kuzmich**, DSc (Vet), Belarus;  
Prof. **Ya.V. Kuzyakov**, DSc (Bio), Germany; Prof. **N.N. Lazarev**, DSc (Ag); Prof. **V.I. Leunov**, DSc (Ag);  
Prof. **Vyacheslav M. Lukomets**, DSc (Ag), Member of the Russian Academy of Sciences;  
Prof. **D.A. Melnichuk**, DSc (Bio), Member of NASU and NAASU, Ukraine;  
**R.A. Migunov**, PhD (Econ), PhD MSU; **G.F. Monakhos**, PhD (Ag);  
Assoc. Prof. **S.G. Monakhos**, DSc (Ag); Prof. **V.D. Naumov**, DSc (Bio);  
Prof. **V.A. Panfilov**, DSc (Eng), Member of the Russian Academy of Sciences;  
Prof. **S.Ya. Popov**, DSc (Bio); Prof. **N.M. Przhivalskiy**, DSc (Chem);  
Prof. **A.K. Radzhabov**, DSc (Ag); Prof. **G.V. Rodionov**, DSc (Ag); Prof. **V.S. Rubets**, DSc (Bio);  
Prof. **N.M. Svetlov**, DSc (Econ), Corr. Member of the Russian Academy of Sciences;  
Assoc. Prof. **O.V. Selitskaya**, PhD (Bio); Prof. **Aleksandr A. Soloviev**, DSc (Bio);  
Prof. **I.G. Tarakanov**, DSc (Bio); Prof. **S.P. Torshin**, DSc (Bio); Prof. **S.V. Fedotov**, DSc (Vet);  
Prof. **Lyudmila I. Khrustaleva**, DSc (Bio); Assoc. Prof. **Valeriya P. Chayka**, DSc (Econ);  
Prof. **V.A. Chernikov**, DSc (Ag); Prof. **I.N. Shilo**, DSc (Eng), Belarus; Prof. **A.S. Shuvarikov**, DSc (Ag);  
Prof. **Yu.A. Yuldashbayev**, DSc (Econ), Member of RAS

#### EDITORIAL STAFF

Scientific editor – **R.A. Migunov**  
Editor – **V.I. Markovskaya**  
Translation into English – **N.A. Sergeeva**  
Computer design and making-up – **A.S. Lavrova**

The journal is included in the list of both leading scientific journals  
and publications under review of VAK (Higher Attestation Commission)

The journal is also included in both AGRIS database  
and in Russian index of scientific quoting (RINTS)

Rules of scientific articles typography for publishing in the journal “Izvestiya of TAA” are put on the internet  
at this address (<https://www.timacad.ru/about/struktura-universiteta/izdaniia/zhurnal-izvestiia-tskha>)

No fee is charged from postgraduates for publications

© Federal State Budget Establishment of Higher Education –  
Russian Timiryazev State Agrarian University, 2022

© Publishing House of Russian Timiryazev Agrarian University, 2022

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА И КАЧЕСТВА ВИНМАТЕРИАЛОВ ИЗ УСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

А.К. РАДЖАБОВ, Г.Э. ТЕР-ПЕТРОСЯНЦ, В.В. ФАДЕЕВ

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева)

*В последние годы в нашей стране уделяется большое внимание восстановлению и развитию виноградарства и виноделия. Государство стимулирует закладку новых насаждений путем выделения субсидий на закладку виноградников и уход за молодыми насаждениями, создаются благоприятные условия для конкурентоспособности отечественной виноградо-винодельческой продукции. Другой вектор развития сельского хозяйства заключается в том, что в мире все большую популярность приобретает направление производства продукции органического земледелия. Принят Федеральный закон «Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации», который вступил в силу 1 января 2020 г. Принципы органического производства все шире распространяются в производстве продукции виноградарства. В этой связи большое значение приобретает возделывание устойчивых сортов винограда, так как классические европейские сорта требуют многократных обработок пестицидами для защиты урожая и растений от болезней. Цель работы – оценить качественный состав виноматериалов группы новых устойчивых технических сортов винограда для производства красных вин. В исследование были включены устойчивые технические сорта селекции Раушедо с красной окраской ягоды: Мерло Эрли, Мерло Хорус, Каберне Волос, Каберне Эйдос. Контролем служил сорт Мерло. По происхождению сорта являются сложными межвидовыми гибридами. Проведено изучение сортов нового поколения по общепринятым в виноградарстве и виноделии методикам. При оценке элементного состава виноматериалов установлены количественные параметры присутствия в листьях и виноматериалах по 27 минеральным элементам. Установлено, что на первом месте по содержанию в виноматериалах находится калий (1329,0–1877,0 мг/л), затем следуют сера, кальций, магний, кремний, фосфор, натрий, бор, железо, медь, марганец, цинк. Существенное превышение содержания в листьях и виноматериалах контрольного сорта по сравнению с опытными сортами установлено по содержанию железа, натрия, серы, фосфору. В опытных виноматериалах выше было содержание кремния.*

**Ключевые слова:** виноград, сорт, устойчивость, вино, виноматериалы, элементный состав листьев, элементный состав виноматериалов, качество виноматериалов.

### Введение

В последние годы особое внимание уделяется экологически безопасным приемам выращивания и переработки винограда, химическому составу винодельческой продукции в связи с развитием органического виноградарства и виноделия, и производства биовин [1–3]. Актуальность этого направления именно для виноградарства и виноделия обусловлена тем, что классические сорта винограда вида Витис

Винифера, используемые для виноделия, характеризуются низким уровнем устойчивости к болезням и вредителям, которые попали в Европу в середине XIX в. В этой связи в технологии их выращивания важным элементом является система мероприятий по защите от болезней путем применения пестицидов.

В течение более чем полутора века ведется направленная селекция с целью получения устойчивых сортов винограда [4, 5]. При этом важное внимание уделяется получению винных сортов и разработке приемов, обеспечивающих высокий уровень качества винодельческой продукции. В этом направлении исследования проводятся в различных странах, в том числе в нашей стране.

Вино имеет в своем составе много разнообразных веществ: спирты, сахара, органические кислоты, эфиры, альдегиды, витамины, дубильные вещества, фенольные соединения, ароматические, красящие, минеральные вещества. Комплекс веществ, которые определяют уникальное качество вина, имеет свою специфику в зависимости от условий и места выращивания, сорта, агротехники, особенностей переработки и др.

Содержание минеральных веществ в продукции виноделия является одним из важных показателей его качества, пищевой безопасности. Установлено, что в среднем содержание калия в образцах крымских коньяков составило 12,2 мг/л, натрия – 35,2 мг/л, кальция – 1,3 мг/л, магния – 1,7 мг/л. Отмечается, что произведенные в Крыму коньяки характеризуются относительно более высоким содержанием калия [6].

В.Е. Андреевой и другими исследователями изучалось содержание катионов щелочных металлов в сусле и молодых винах сортов межвидового происхождения (7). Установлено, что минеральные вещества находятся в вине в виде свободных ионов или входят в состав комплексных соединений с органическими веществами, играя существенную роль в процессах первичного и вторичного виноделия. Они участвуют непосредственно в процессе формирования вина и во многом определяют его стабильность и органолептические свойства.

Целью исследований явилось изучение элементного состава и качества вино-материалов, полученных из устойчивых сортов нового поколения. В задачи исследований входило изучение элементного состава почвы, листьев и изучение влияния сорта на качество и элементный состав вино-материалов.

### **Материал и методика исследований**

В исследования включены устойчивые технические сорта селекции Раушедо с красной окраской ягоды: Мерло Эрли, Мерло Хорус, Каберне Волос, Каберне Эйдос. Контролем служил сорт Мерло. Количество кустов в каждом варианте 100 шт (два ряда). Учеты и наблюдения проводили на модельных кустах (12 кустов в каждом варианте). Опытные сорта получены путем скрещивания сортов вида Витис Винифера Мерло и Каберне Совиньон с гибридными сортами межвидового происхождения [8, 9]. У гибридных сортов, в названии которых присутствует слово «Мерло», материнской формой при селекции явился сорт народной селекции Мерло, а у сортов, в названии которых присутствует слово «Каберне», материнской формой явился сорт Каберне Совиньон. Отцовской формой в обоих случаях служили сложные межвидовые гибриды.

Полевые опыты проводились на виноградниках агрофирмы «Солнечная долина», г. Судак, Республика Крым, на опытном участке, который был заложен в 2013 г. Испытуемые сорта и контрольный сорт были привиты на подвой Берландиери х Рипариа Кобер 5 ББ. При закладке виноградника применялась плотная посадка со схемой 2,5 × 1 м, количество кустов на одном га – 4000 шт. Кусты формировали в виде односторонней формировки Гюйо с двумя сучками замещения. Высота штамба

составляла 40 см. Кусты выращиваются на вертикальной шпалере высотой 1,8 м. Полив на опытном участке осуществлялся капельным способом.

Ряды опытного участка, где располагались кусты контрольного сорта Мерло, для защиты от болезней опрыскивались 6 раз за сезон согласно агроуказаниям. Опрыскивание кустов опытных сортов винограда пестицидами не проводилось.

Лабораторные исследования проводили в лаборатории на кафедре плодоводства, виноградарства и виноделия РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева и в лаборатории АО НЦ «Малотоннажная химия». Содержание минеральных элементов в составе виноматериалов, поливной воды и листьев сортов определяли спектрометрическим методом с индуктивно связанной плазмой на приборе iCAP 6300 Duo (Thermo Fisher Scientific, США). Пробоподготовка образцов листьев заключалась в сжигании в муфеле при 600°C в присутствии смеси соляной и азотной кислот, последующем кислотном гидролизе и разбавлении деионизованной водой. Пробоподготовка образцов вина заключалась в разбавлении дистиллированной водой. Физико-химическая и органолептическая характеристика образцов осуществлялась на базе ФГБУН ВНИИ-ВиВ «Магарач» РАН и на базе лаборатории кафедры плодоводства, виноградарства и виноделия Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К.А. Тимирязева [10]. При оценке качественных характеристик вин использовались следующие методы: ГОСТ 32095–2013 «Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Методы определения объемной доли этилового спирта»; ГОСТ 32114–2013 «Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Методы определения массовой концентрации титруемых кислот»; ГОСТ 32001–2012 «Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Методы определения массовой концентрации летучих кислот»; ГОСТ 32000–2012 «Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Методы определения массовой концентрации приведенного экстракта»; ГОСТ 26188–2016 «Продукты переработки фруктов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Метод определения pH»; Определение массовой концентрации редуцирующих сахаров, содержания фенольных веществ, красящих веществ по методам, описанным в книге «Методы технохимического контроля в виноделии»

По агроклиматическому районированию Республики Крым территория АО «Солнечная Долина» относится к Южнобережному агроклиматическому району, который характеризуется умеренно-жарким засушливым климатом с очень мягкой и малоснежной зимой.

### **Результаты и их обсуждение**

При оценке содержания отдельных минеральных элементов в листьях винограда контрольного (Мерло) и опытного сорта Мерло Хорус (рис. 1) установлено, что самым высоким содержанием характеризовались: кальций, содержание которого в листьях контрольного и опытного сортов было на уровне 30г/кг; калий (на уровне 8 г/кг); магний (3,8–4,2 г/кг).

Содержание серы в листьях опытного сорта Мерло Хорус было в 2,7 раза ниже, чем у контрольного, что, очевидно, обусловлено обработками серосодержащими пестицидами для борьбы с оидиумом на контрольном сорте. Это свидетельствует о значительном изменении баланса элементов в листьях при обработке пестицидами, неговоря уже о том, что после листопада и минерализации происходит накопление серы в почве. По другим элементам существенные изменения содержания в листьях у контрольного и опытного сортов не отмечены.

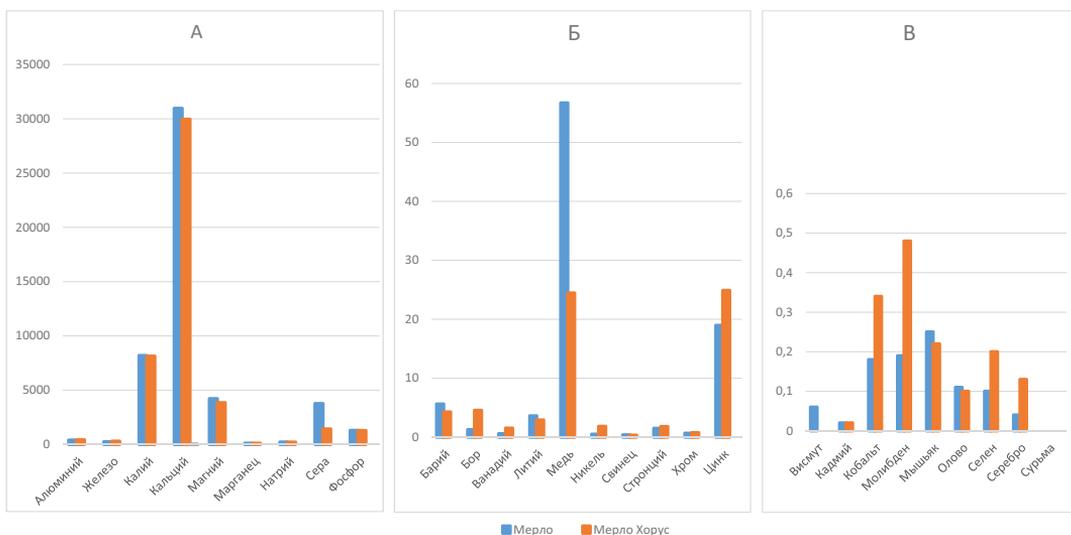
При оценке данных по содержанию в листьях элементов с концентрацией от 1,0 до 100 мг/кг установлено, что среди них находились такие элементы, как барий,

бор, ванадий, литий, медь, никель, свинец, стронций, хром и цинк. По большинству из них не отмечены различия в зависимости от сорта. Установлено существенное превышение в листьях контрольного сорта Мерло содержания меди (в 2,3 раза), что также, очевидно, обусловлено обработкой медьсодержащими препаратами против милдью. Имеет место также некоторое превышение содержания в листьях опытного сорта таких элементов, как бор, ванадий, никель и цинк. А среди элементов, содержащихся в концентрации до 1,0 мг/кг, установлено наличие таких элементов, как висмут, кадмий, кобальт, молибден, мышьяк, олово, селен, серебро. Среди этой группы некоторое превышение в листьях опытного варианта отмечено по кобальту, молибдену, серебру и селену.

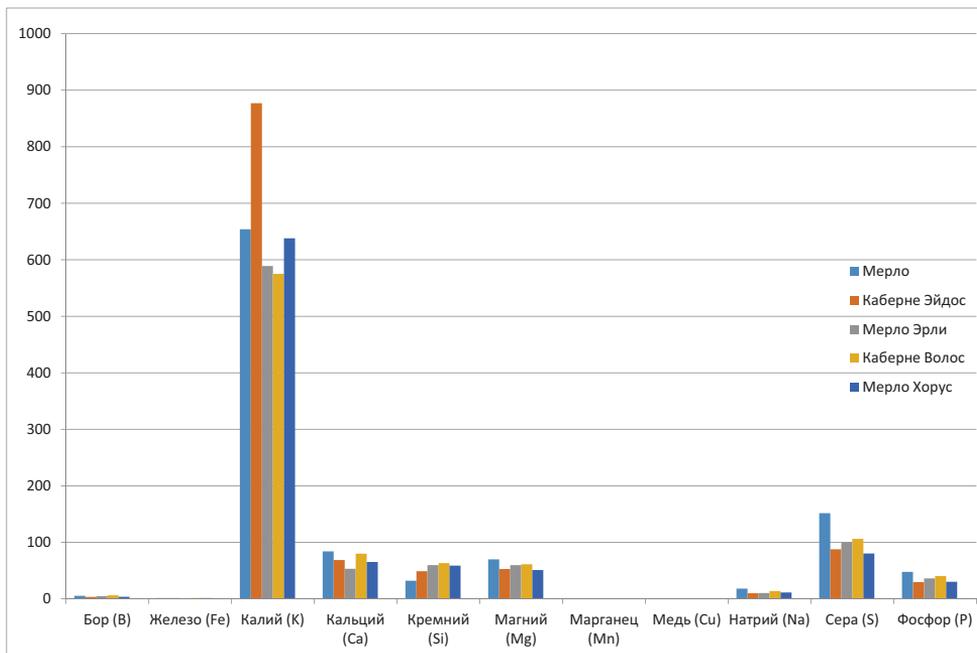
Проведена оценка содержания минеральных элементов в виноматериалах изучаемых и контрольного сортов винограда, и представлены полученные данные. Элементы подразделены на две группы: содержащиеся в концентрации более 1 мг/л (рис. 2); содержащиеся в концентрации менее 1 мг/л (рис. 3).

Наиболее высокий уровень содержания среди всех изученных элементов отмечается у калия: его содержание колеблется от 877 мг/л Каберне Эйдос) до 575 мг/л (Каберне Волос). Затем следуют элементы: сера – 151,6 мг/л (контроль Мерло) до 80,25 мг/л (Мерло Хорус); магний (69,8–50,9 мг/л); фосфор (47,7–29,68 мг/л); кальций (53,11–84,01 мг/л); кремний (32,0–63,22 мг/л); бор (3,45–6,25 мг/л); натрий (9,98–18,13 мг/л)4 железо (1,03–1,61 мг/л); медь (0,77–1,25 мг/л); марганец (0,43–0,91 мг/л).

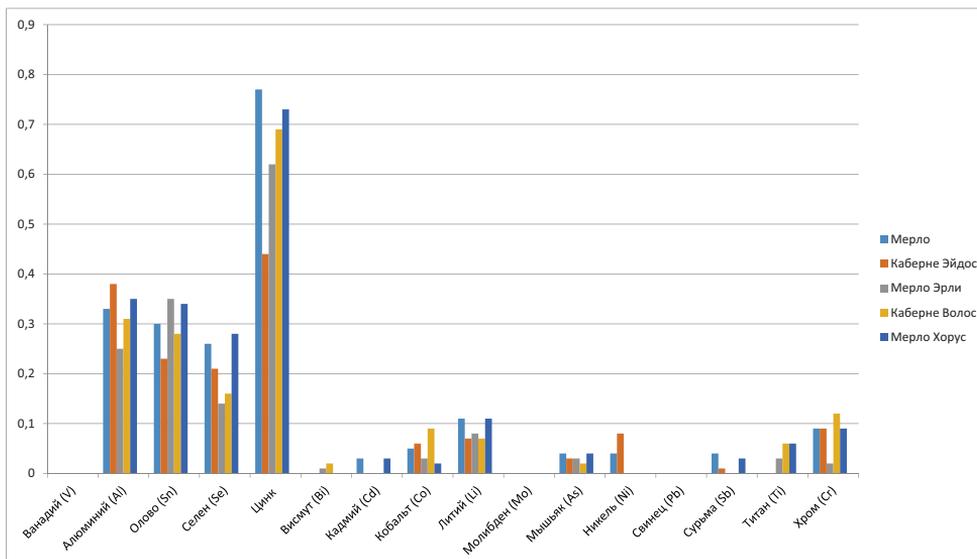
На рисунке 3 представлена диаграмма с изображением содержания элементов в концентрации менее 1 мг/л. Эта группа включает в себя следующие элементы: алюминий, олово, селен, цинк, кобальт, молибден, хром, висмут, ванадий, молибден, кадмий, свинец никель, сурьма, титан, мышьяк, литий. Ряд элементов отсутствовал или был обнаружен как следы. Прослеживается достоверное превышение в виноматериалах контрольного варианта по сравнению с опытными по кальцию, железу, меди, натрию, сере, фосфору и цинку. В опытных виноматериалах установлено более высокое количество кремния.



**Рис. 1.** Содержание минеральных элементов в листьях контрольного (Мерло) и опытного (Мерло Хорус) сортов винограда (АФ «Солнечная долина», 2020 г.):  
 А – элементы с содержанием более 100 мг/кг; Б – элементы с содержанием 1,0 до 100 мг/кг;  
 В – элементы с содержанием до 1 мг/кг



**Рис. 2.** Содержание минеральных элементов в виноматериалах контрольного (Мерло) и опытных сортов винограда (АФ «Солнечная долина», 2020 г.): элементы с содержанием более 1 мг/л



**Рис. 3.** Содержание минеральных элементов в виноматериалах контрольного (Мерло) и опытных сортов винограда (АФ «Солнечная долина», 2020 г.): элементы с содержанием менее 1 мг/л

Наряду с изучением элементного состава нами проводились биохимическое и сенсорное исследования виноматериалов испытываемых сортов. Установлено, в целом образцы виноматериалов по основным параметрам биохимического состава соответствовали требованиям, предъявляемым к виноматериалам из красных сортов винограда. По содержанию общего и приведенного экстракта, фенольных и красящих

веществ, спиртуозности виноматериалы из новых сортов существенно превосходили виноматериалы из контрольного сорта Мерло.

При закрытой дегустационной оценке виноматериалы из новых устойчивых сортов характеризовались темно-рубиновым и темно-гранатовый цветом, чистым сортовым ароматом с выраженностью ягодного направления, полным, слаженным насыщенным танинным, экстрактивным, вишнево-шоколадным вкусом. Отмечено также полное отсутствие во вкусе и аромате гибридных тонов. Опытные образцы получили так же, как и контрольный, среднюю оценку на уровне 7,7 балла из 8,0 возможных.

## Выводы

Таким образом, при оценке элементного состава виноматериалов установлены количественные параметры присутствия в листьях и виноматериалах по 27 минеральным элементам. Установлено, что на первом месте по содержанию в виноматериалах находится калий (1329,0–1877,0 мг/л), затем следуют сера, кальций, магний, кремний, фосфор, натрий, бор, железо, медь, марганец, цинк. Существенное превышение содержания в листьях и виноматериалах контрольного сорта по сравнению с опытными сортами установлено по содержанию железа, натрия, серы, фосфору. В опытных виноматериалах выше было содержание кремния.

## Библиографический список

1. Михловски М., Раджабов А.К., Хафизова А. Новые перспективные технические гибридные формы селекции Винселект Михловски для биологического виноградарства // Известия ТСХА. – 2016. – № 5. – С. 19–28.
2. Эллис М.А. Объединенное руководство по органическому контролю заболеваний кустарников и винограда. – М.: Нита, 2004.
3. Романишин П.Е., Гугучкина Т.И., Якименко Е.Н. Первое биовино России // Пищевая индустрия. – 2011. – № 4. – С. 12–13.
4. Volynkin V.A., Levchenko S.V., Polulyah A.A., Likhovskoi V.V. Models for estimation of the existing grapevine gene pool bioversity and for the breeding of new cultivars // Acta Horticulturae. – 2018. – Т. 1190. – Pp. 15–20.
5. Раджабов А.К., Лычева Л.А., Гержикова В.Г. Разработка элементов технологии производства столовых сухих вин из устойчивого сорта винограда Бианка в условиях Левобережья Дона // Достижения науки и техники АПК. – 2008. – № 12. – С. 60–62.
6. Жиликова Т.А., Дерновая Е.В, Гусева И.П. Применение атомно-абсорбционных и атомно-эмиссионных методов в анализе основных элементов минерального состава винопродукции // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2017. – № 3. – С. 41–43.
7. Андреева В.Е., Калмыкова Н.Н. Калмыкова Е.Н., Гапонова Т.В. Сравнительный анализ содержания катионов щелочных металлов в сусле и молодых винах, полученных из белых сортов винограда межвидового происхождения // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2018. – Т. 20, № 3 (105). – С. 67–68.
8. Новые сорта винограда, устойчивые к болезням. Техническая тетрадь. VCR16-R. – 2015. – 42 с.
9. Хафизова А.А., Сартори Еудженио. Новые устойчивые сорта винограда селекции Виваи Кооперативи Раушедо, Италия // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2020. – № 21 (3). – С. 103–108.
10. Гержикова В.Г. и др. Методы технохимического контроля в виноделии: М. – 2-е изд. – Симферополь: Таврида, 2009. – 304 с.

# RESULTS OF THE STUDY OF THE ELEMENTAL COMPOSITION AND QUALITY OF WINE MATERIALS FROM RESISTANT GRAPE VARIETIES OF THE NEW GENERATION

A.K. RADZHABOV, G.E. TER-PETROSYANTS, V.V. FADEEV

(Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

*In recent years, much attention has been paid to the restoration and development of viticulture and winemaking in our country. The state promotes the planting of new vineyards by providing subsidies for the establishment of vineyards and the care of young plantings. Favorable conditions are created for the competitiveness of domestic winegrowing products. Another vector of agricultural development is the growing popularity of organic farming products farming in the world. The Federal Law No 280-FZ “On Organic Products and on Amendments to Certain Legislative Acts of the Russian Federation” was adopted and entered into force on January 01, 2020. The principles of organic production are increasingly spread in viticulture production. Consequently the cultivation of resistant grape varieties is of great importance, because classic European varieties require repeated pesticide treatments to protect crops and plants from diseases. The purpose of the research is to assess qualitative composition of wine materials of a group of new resistant grape varieties for the production of red wines. The research involved the following resistant wine grape varieties by VCR breeding with red berry color: Merlot Early, Merlot Khorus, Cabernet Volos, Cabernet Eidos. Merlot variety served as the control. The origin of varieties is complex interspecific. The evaluation of the varieties of a new generation was carried out according to the methods generally accepted in viticulture and winemaking. When assessing the elemental composition of wine materials, quantitative parameters of the presence of 27 mineral elements in leaves and wine materials were established. It was found that potassium (1329.0–1877.0 mg/l) is in the first place in terms of content in wine materials, followed by sulfur, calcium, magnesium, silicon, phosphorus, sodium, boron, iron, copper, manganese, zinc. A significant excess of the content in the leaves and wine materials of the control variety compared with the experimental varieties was established by the content of iron, sodium, sulfur, phosphorus. The silicon content was higher in the experimental wine materials.*

**Key words:** *grape, variety, resistance, wine, wine materials, elemental composition of leaves, elemental composition of wine materials, quality of wine materials.*

## References

1. Mikhlovskiy M., Radzhabov A.K., Khafizova A. Novye perspektivnye tekhnicheskie gibridnye formy seleksii Vinselekt Mikhlovski dlya biologicheskogo vinogradarstva [New promising technical hybrid forms of the Vinselect Mikhlovsky selection for biological viticulture]. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii*. 2016; 5: 19–28. (In Rus.)
2. Ellis M.A. Ob"yedinennoe rukovodstvo po organicheskomu kontrolyu zabolovaniy kustarnikov i vinograda [Joint Guidelines for Organic Disease Control in Shrubs and Vineyards]. M.: Nita, 2004. (In Rus.)
3. Romanishin P.E., Guguchkina T.I., Yakimenko E.N. Pervoe biovino Rossii [The first bio-wine of Russia]. *Pishchevaya industriya*. 2011; 4: 12–13. (In Rus.)
4. Volynkin V.A., Levchenko S.V., Polulyah A.A., Likhovskoi V.V. Models for estimation of the existing grapevine gene pool biodiversity and for the breeding of new cultivars. *Acta Horticulturae*. 2018; 1190: 15–20. DOI: 10.17660/ActaHortic
5. Radzhabov A.K., Lycheva L.A., Gerzhikova V.G. Razrabotka elementov tekhnologii proizvodstva stolovykh sukhikh vin iz ustoychivogo sorta vinograda Bianka v usloviyakh Levoberezh'ya Dona [Development of technology elements for the production of dry

table wines from a sustainable grape variety Bianca in the conditions of the Left Bank of the Don]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2008; 12: 60–62. (In Rus.)

6. *Zhilyakova T.A., Dernovaya E.V. Guseva, I.P.* Primenenie atomno absorbtionnykh i atomno emissionnykh metodov v analize osnovnykh elementov mineral'nogo sostava vinoproduktsii [Application of atomic absorption and atomic emission methods in the analysis of the main elements of the mineral composition of wine products]. "Magarach". *Vinogradarstvo i vinodelie*. 2017; 3: 41–43. (In Rus.)

7. *Andreeva V.E., Kalmykova N.N., Kalmykova E.N., Gaponova T.V.* Sravnitel'niy analiz sodержaniya kationov shchelochnykh metallov v susle i molodykh vinakh, poluchennykh iz belykh sortov vinograda mezhhvidovogo proiskhozhdeniya [Comparative analysis of cation content of alkali metals in must and young wines produced from white grape varieties of inter-specific origin]. "Magarach". *Vinogradarstvo i vinodelie*. 2018; 20 (3(105)): 67–68. (In Rus.)

8. *Novye sorta vinograda, ustoychivye k bolezniam. Tekhnicheskaya tetrad'* [New varieties of grapes resistant to diseases. Technical notebook]. VCR16-R, 2015: 42. (In Rus.)

9. *Khafizova A.A., Sartori Eugenio.* Novye ustoychivye sorta vinograda selektsii Vivai Kooperativi Raushedo, Italiya [New resistant grape varieties of Vivai Kooperativi Rauschedo breeding, Italy]. "Magarach". *Vinogradarstvo i vinodelie*. 2020; 21 (3): 103–108. DOI: 10.35547/IM.2019.21.3.011 (In Rus.)

10. *Gerzhikova V.G. et al.* Metody tekhnokhimicheskogo kontrolya v vinodelii [Methods of technochemical control in winemaking]. 2<sup>nd</sup> ed. Simferopol, Taurida, 2009: 304. (In Rus.)

**Раджабов Агагомед Курбанович**, и.о. директора Института садоводства и ландшафтной архитектуры, д-р с.-х. наук, профессор, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976–49–06; e-mail: plod@rgau-msha.ru

**Тер-Петросянц Георг Эдвардович**, заведующий отделом виноградарства, декоративных и редких культур учебно-научно-производственного центра им. В.И. Эдельштейна; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: ter-petrosyanc@rgau-msha.ru; тел.: (926) 151–71–17

**Фадеев Владислав Владимирович**, главный агроном, АО «Солнечная Долина»; 298025, Российская Федерация, Республика Крым, г. Судак, с. Солнечная Долина, ул. Черноморская, 23; e-mail: vvscream@gmail.com; тел.: (978) 956–22–00

**Agamagomed K. Radzhabov**, DSc (Ag), Professor, Acting Director of the Institute of Horticulture and Landscape Architecture, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–49–06; E-mail: plod@rgau-msha.ru)

**Georg E. Ter-Petrosyants**, Head of the Department of Viticulture, Ornamental and Rare Crops, Educational, Scientific and Production Center named after V.I. Edelstein, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (926) 151–71–17; E-mail: ter-petrosyanc@rgau-msha.ru)

**Vladislav V. Fadeev**, Chief Agronomist, JSC "Solnechnaya Dolina" (23 Chernomorskaya Str., Solnechnaya Dolina v., Sudak, Republic of Crimea, 298025, Russian Federation; phone: (978) 956–22–00; E-mail: vvscream@gmail.com)

## БОТАНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ДРЕВОГУБЦЕВ (*CELASTRUS* L.)

И.А. САВИНОВ<sup>1</sup>, Е.В. СОЛОМОНОВА<sup>1</sup>, Н.А. ТРУСОВ<sup>2</sup>, Г.А. СИМАКОВ<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева;  
<sup>2</sup> Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН)

Род *Celastrus* L. (древогубец) включает в себя около 35 видов древесных лиан, произрастающих в Австралии, Мадагаскаре, Америке и Азии включая российский Дальний Восток. Некоторые виды, используемые в России и за рубежом для вертикального озеленения, не только декоративны, но частично съедобны и даже лечебны. Содержание биологически активных соединений в листьях и других структурах древогубцев изучено фрагментарно. В растениях обнаружены циклитол, катехины, а также гликозиды кемпферола и кверцетина. Известно о применении древогубцев в народной и современной медицине России, а также Индии, Китая и других стран Азии. Сведений о листовой продуктивности произрастающих в Московском регионе видов недостаточно. Проведена сравнительная ботаническая оценка побегов и листьев у 4 видов и одной разновидности древогубцев из коллекции Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН. Изучено по 19–20 однолетних побегов *C. rugosus*, *C. flagellaris*, *C. scandens*, *C. strigillosus* и *C. orbiculatus* var. *punctatus*. В каждом таксоне определены форма листьев, их число на побеге, изучены масса, длина и ширина листа. Определены и статистически обработаны средние, максимальные и минимальные значения морфометрических показателей. Установлено, что листья сильно варьируют по форме, числу на побеге (от 42 у *C. orbiculatus* var. *punctatus* до 21 у *C. strigillosus*), средней массе (от  $0,42 \pm 0,03$  у *C. strigillosus* до  $0,24 \pm 0,01$  г у *C. orbiculatus* var. *punctatus*), средней массе на одном побеге (от 8,82 г у *C. strigillosus* до 10,92 г у *C. scandens*), средней длине (от  $6,74 \pm 0,11$  см у *C. flagellaris* до  $5,73 \pm 0,18$  см у *C. orbiculatus* var. *punctatus*) и средней ширине (от  $4,89 \pm 0,21$  см у *C. strigillosus* до  $3,34 \pm 0,09$  см у *C. orbiculatus* var. *punctatus*). Несмотря на значительную изменчивость листьев, интродуцированные в условиях Московского региона *C. rugosus*, *C. flagellaris*, *C. scandens*, *C. strigillosus* и обладающий наименьшей листовой продуктивностью *C. orbiculatus* var. *punctatus* могут быть рекомендованы для дальнейшего изучения в качестве лекарственного сырья.

**Ключевые слова:** древогубцы, *Celastrus*, *Celastraceae*, ботаническая оценка, побеги, листья, лекарственный потенциал, Московский регион.

### Введение

Род *Celastrus* L. – древогубец – входит в семейство *Celastraceae* и включает в себя около 35 видов [12, 18], произрастающих в Азии, Австралии, Мадагаскаре и Америке. Среди них 3 вида встречаются на российском Дальнем Востоке. Это листопадные (редко – вечнозеленые) лазающие кустарники, чаще всего – крупные лианы. В России и за рубежом представители рода используются в основном как декоративные растения (ценятся осенней окраской листьев и яркими плодами с семенами).

Однако кроме декоративности, древогубцам присущи лекарственные свойства, в настоящее время недостаточно изученные. Установлено, что некоторые соединения, содержащиеся в различных частях древогубцев, обладают биологической активностью: циклитол (дульцит из листьев *C. orbiculatus*) – противовоспалительной активностью; катехины – антиоксидантной; а сесквитерпеноиды – антифидантной, антифунгальной, антивирусной, цитотоксической (производные  $\beta$ -агарофурана из корней, плодов и семян *C. orbiculatus*, а также более 30 соединений из стеблей *C. rugosus*) и противоопухолевой (целастрол из корней *C. orbiculatus*) [7, 11].

Имеются неполные сведения о флавоноидном составе листьев, в которых широко распространены гликозиды кемпферола и кверцитина (*C. orbiculatus*: кемпферол-7-рамнозид, кемпферол-3,7-дирамнозид, кемпферол-3-глюкозидо-7-рамнозид, кверцитин-3,7-дирамнозид; *C. rugosus*: кемпферол-3- $\alpha$ -L-рамнозидо-7- $\alpha$ -рамнозид, кемпферол-3- $\beta$ -глюкозидо-7-рамнозид, кверцитин-3- $\beta$ -глюкозидо-7- $\alpha$ -рамнозид; *C. scandens*: кемпферол-3- $\alpha$ -рамнозидо- $\alpha$ -рамнозид, кемпферол-3- $\beta$ -глюкозидо-7- $\alpha$ -рамнозид, кверцитин-3- $\alpha$ -глюкозидо-7- $\alpha$ -рамнозид) [1, 16, 19]. Кроме того, многие растения этого рода содержат соединения с вероятной противоопухолевой активностью.

Известно и о непосредственном лекарственном применении древогубцев. Плоды древогубцев в народной медицине Индии и Китая используются при ревматизме, подагре, лихорадке, астме, болях в животе, диарее, дизентерии, геморрое, укусах змей, для лучшего заживления ран. В семенах содержится 35–50% и более жирного масла.

Масло семян *C. paniculatus* используется в народной медицине Индии, стран Азии и на Филиппинах как средство, тонизирующее работу головного мозга, улучшающее память, способствующее развитию интеллекта у умственно отсталых детей, при лечении бери-бери; как ранозаживляющее, болеутоляющее, потогонное, при различных лихорадках; при ревматизме, подагре; в качестве противоядия при передозировке опиумом, а также как афродизиак. В России в продаже имеются препараты индийского производства, в состав которых входят масло семян *C. paniculatus* (гель Химколин, применяемый при эректильной дисфункции), а также экстракт *C. paniculata* (таблетки и сироп растительного аюрведического препарата Герифорте (Geriforte) Himalaya Herbals и применяемая в ветеринарии Герифорте ветжидкость (рег. № РК-ВП-4–1740–11 от 08.11.11), действующие как антиоксидант, релаксант и адаптогенный тоник) [2, 3, 9]. *C. orbiculatus* применяется для лечения паралича, головной и зубной боли, укусов змей; его корни, стебли и листья обладают противовоспалительными, противоревматическими, очистительными и тонизирующими свойствами. Отвар корней и стеблей применяют внутрь, а измельченные свежие листья используют для наружного применения. *C. scandens* применялся коренными североамериканскими индейцами в траволечении. В народной медицине используются в основном корни в свежем виде, в виде припарок, экстрактов или настоек как потогонные, мочегонные, рвотные средства, а также для лечения упорных язв, кожных высыпаний, хронических заболеваний печени и кожи (включая рак кожи), ревматизма, бели и дизентерии. Кора используется наружно в качестве мази при ожогах, царапинах и кожных высыпаниях, ее экстракты обладают кардиоактивностью. Рекомендуется соблюдать некоторую осторожность при использовании этого растения, поскольку есть предположения о его токсичности [13–15, 17].

В дендрарии Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина в интродукционных испытаниях участвуют *C. orbiculatus*, *C. rugosus*, *C. strigillosus*, *C. flagellaris*, *C. scandens* и *C. orbiculatus* var. *punctatus*. Растения хорошо приспособлены к условиям Московского региона [4].

На наш взгляд, лекарственное сырье из ежегодно возобновляемых на растении структур – таких, как листья и плоды, имеет очевидные преимущества. Целесообразным представляется оценить количественный сырьевой потенциал листьев, значительно превышающих некрупные плоды по числу, а также суммарным массе и объему. Ранее нами была изучена продуктивность листовой массы *C. orbiculatus* – наиболее популярного в озеленении представителя рода [8].

Согласно данным литературы [10, 12] листья *C. rugosus* эллиптические, обратно-яйцевидные или яйцевидные, 4–13×2,5–8 см, на побегах 1-го типа; *C. flagellaris* – яйцевидные, эллиптические до почти округлых, 4–8 (10)×1,2–5 см, на побегах 1-го типа; *C. scandens* – яйцевидные или эллиптические, 5–10×2,2–5,5 см, на побегах 2-го типа; *C. strigillosus* – эллиптические или продолговато-обратнояйцевидные, 7–14×4–8 см,

на побегах 1-го типа; *C. orbiculatus* var. *punctatus* – узко-эллиптические, 2–7×0,8–3 см, на побегах 1-го типа (1-й тип – ser. *Axillaris* – побеги более 50 см, 5–20 см, 1–2 см, соцветия без терминальных цветков; 2-й тип – ser. *Paniculati* – побеги до 50 см, 1–2 см, соцветия с терминальными цветками) [6].

**Цель исследований:** провести ботаническую оценку лекарственного потенциала видов рода *Celastrus* в условиях Московского региона, и в первую очередь – продуктивности их листовой массы. Задачи заключаются в том, чтобы: 1) провести подсчет числа листьев на побегах; 2) получить сопоставимые сравнительные данные по размерам и массе листьев на каждом побеге; 3) проанализировать полученные результаты морфометрических и весовых измерений и оценить потенциальную продуктивность листовой массы растений; 4) сравнить полученные данные с данными для *C. orbiculatus* – широко известного и давно культивируемого декоративного растения.

### Материал и методика исследований

Морфометрическими методами проведена сравнительная оценка листовой продуктивности 4 видов и одной разновидности древогубцев: *C. rugosus*, *C. flagellaris*, *C. scandens*, *C. strigillosus* и *C. orbiculatus* var. *punctatus*. Сбор побегов проводили в конце июля 2022 г. в дендрарии Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН. С растения собирали по 19–20 однолетних сильно удлинённых побегов с южной стороны из середины кроны. Листья с каждого побега отделяли и измеряли их длину и ширину линейкой, начиная с верхнего. Листья взвешивали на технических весах поочередно, начиная с верхушки побега. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики [5].

### Результаты и их обсуждение

Исследованные побеги имели разную длину, частично начали одревесневать. Некоторые побеги – с дополнительными боковыми побегами и с незрелыми плодами.

Форма листьев на исследованных побегах всех таксонов весьма вариативна и в целом соответствует описанной ранее в литературе.

Результаты измерения и взвешивания листьев *C. rugosus* представлены в таблице 1. Исследованные побеги имеют от 11 до 43 листьев, в среднем – 31. Средняя масса листа составляет  $0,33 \pm 0,02$  г; максимальная средняя масса листа отдельного побега –  $0,48 \pm 0,04$  г, минимальная –  $0,23 \pm 0,03$  г. Масса одного листа составляет от 0,01 до 1,23 г. Листовая продуктивность побега – среднее значение массы листьев с одного побега (масса одного листа × число листьев на побеге) – 9,77 г, минимальное значение – 7,00 г, максимальное – 12,58 г. Среднее значение длины листа составляет  $6,52 \pm 0,20$  см, минимальная средняя длина листа у побега –  $4,19 \pm 0,41$  см, максимальная –  $7,42 \pm 0,30$  см. Длина листа колеблется от 1,2 до 11,6 см. Среднее значение ширины листа –  $4,09 \pm 0,09$  см, минимальная средняя ширина листа у побега –  $3,92 \pm 0,32$  см, максимальная –  $4,84 \pm 0,27$  см. Ширина листа колеблется от 0,5 до 9,0 см. В сравнении с данными литературы в условиях интродукции в Московском регионе листья не достигают максимальной длины, но при этом иногда превышают максимальную ширину.

Масса листьев весьма вариативна, коэффициент вариации составляет от 29,32 до 124,57%. Показатель точности опыта для измерений всех побегов превышает 5%, что указывает на большую вариативность данной характеристики и, безусловно, требует привлечения большего количества материала. Средние значения длины и ширины листьев у большинства исследованных побегов также вариативны, коэффициент вариации составляет от 17,37 до 55,08% и от 17,68 до 59,05% соответственно. Показатель точности опыта в большинстве случаев превышает 5%.

**Размерно-весовые характеристики листьев *C. rigosus***

№	Длина, см			Ширина, см			Масса, г				ЧЛ	МЛ	
	M ± m <sub>M</sub>	V, %	P, %	M ± m <sub>M</sub>	V, %	P, %	M ± m <sub>M</sub>	V, %	P, %	tm <sub>M</sub>			V, %
1	7,13 ± 0,40	30,10	5,59	4,16 ± 0,29	0,59	37,59	6,98	0,34 ± 0,04	0,09	69,87	12,97	29	9,86
2	4,97 ± 0,28	35,42	5,53	3,94 ± 0,28	0,56	45,25	7,07	0,30 ± 0,03	0,07	73,70	11,51	41	12,30
3	6,32 ± 0,36	33,66	5,69	4,32 ± 0,33	0,66	33,66	7,55	0,30 ± 0,04	0,08	73,44	12,44	35	10,50
4	6,00 ± 0,34	34,99	5,68	3,78 ± 0,27	0,55	44,53	7,13	0,32 ± 0,04	0,08	79,29	12,70	39	12,48
5	5,50 ± 0,34	40,46	6,17	3,59 ± 0,32	0,65	59,05	9,00	0,23 ± 0,03	0,07	95,44	14,55	43	9,89
6	6,98 ± 0,42	36,73	5,96	4,62 ± 0,36	0,74	48,02	7,89	0,40 ± 0,06	0,11	86,62	14,05	38	15,20
7	4,19 ± 0,41	55,08	9,74	3,58 ± 0,34	0,70	54,35	9,61	0,27 ± 0,05	0,09	29,32	17,10	32	8,64
8	7,36 ± 0,42	32,05	5,67	3,92 ± 0,32	0,65	45,80	8,10	0,26 ± 0,06	0,12	124,57	22,02	32	8,32
9	7,05 ± 0,37	23,76	5,31	4,34 ± 0,33	0,69	33,90	7,58	0,35 ± 0,05	0,11	64,99	14,53	20	7,00
10	6,76 ± 0,38	35,06	5,69	4,12 ± 0,37	0,74	54,39	8,94	0,27 ± 0,04	0,07	80,84	13,11	38	10,26
11	6,24 ± 0,45	43,03	7,27	3,65 ± 0,35	0,71	56,39	9,53	0,33 ± 0,05	0,09	82,83	14,00	35	11,55
12	6,22 ± 0,16	13,54	2,65	3,73 ± 0,13	0,27	17,68	3,47	0,37 ± 0,04	0,09	71,62	12,28	34	12,58
13	5,61 ± 0,26	19,40	4,71	3,73 ± 0,23	0,50	25,87	6,27	0,25 ± 0,04	0,09	101,83	17,21	35	8,75
14	6,07 ± 0,18	27,80	4,14	4,13 ± 0,17	0,35	27,80	4,14	0,37 ± 0,04	0,09	65,81	11,29	34	12,58
15	7,42 ± 0,30	17,37	4,09	4,24 ± 0,24	0,51	23,93	5,64	0,48 ± 0,04	0,09	37,19	8,77	18	8,64

№	Длина, см			Ширина, см			Масса, г			ЧЛ	МЛ
	$M \pm m_M$	$V, \%$	$P, \%$	$m_M$	$V, \%$	$P, \%$	$M \pm m_M$	$m_M$	$V, \%$		
16	$7,09 \pm 0,46$	21,44	6,46	1,02	18,45	5,56	$0,45 \pm 0,06$	0,14	45,32	13,66	4,95
17	$5,87 \pm 0,33$	25,44	5,55	0,68	20,56	6,27	$0,44 \pm 0,04$	0,08	38,77	8,46	9,24
18	$6,42 \pm 0,38$	31,78	5,89	0,78	47,64	8,85	$0,26 \pm 0,04$	0,07	74,04	13,75	7,54
19	$6,91 \pm 0,33$	20,08	4,73	0,69	21,64	5,10	$0,39 \pm 0,04$	0,08	42,88	10,11	7,02
20	$6,25 \pm 0,38$	27,01	6,13	0,79	34,47	7,83	$0,29 \pm 0,04$	0,09	78,72	15,15	8,12
ср	$6,52 \pm 0,20$	13,71	3,07	0,42	9,70	2,17	$0,33 \pm 0,02$	0,03	21,61	4,83	9,77

**Примечание.**  $M \pm m_M$  – средняя арифметическая и ее ошибка;  $m_M$  – доверительный интервал;  $V$  – коэффициент вариации;  $P$  – показатель точности опыта для стандартного доверительного уровня 95% (точность опыта считается удовлетворительной при значениях показателя, не превышающих 5%);  $MЛ$  – масса листьев на одном побеге, г;  $ср$  – среднее значение;  $ЧЛ$  – число листьев на побеге.

Результаты измерения и взвешивания листьев *C. flagellaris* представлены в табл. 2. На исследованных побегах развивается от 15 до 43 листьев, в среднем – 28. При этом средняя масса листа составляет  $0,38 \pm 0,01$  г, у отдельных побегов достигая  $0,44 \pm 0,04$  г, минимальное среднее значение массы листа на побеге –  $0,24 \pm 0,03$  г. Масса одного листа колеблется от 0,01 до 0,95 г. Листовая продуктивность побега в среднем составляет 10,34 г, при этом ее минимальное значение – 5,55 г, а максимальное – 12,76 г. Средняя длина листа –  $6,74 \pm 0,11$  см, минимальная средняя длина листа на одном побеге –  $5,94 \pm 0,26$  см, максимальная –  $7,78 \pm 0,27$  см. Минимальная длина листа – 1,0 см, максимальная – 10,8 см. Средняя ширина листа –  $4,19 \pm 0,08$  см, минимальная средняя ширина листа на одном побеге –  $3,70 \pm 0,25$  см, максимальная –  $4,91 \pm 1,07$  см. Минимальная ширина листа – 0,7 см, максимальная – 7,8 см. В сравнении с данными литературы, в условиях интродукции в Московском регионе, размеры листьев более вариативны как по длине, так и по ширине.

Листья весьма вариативны по массе, коэффициент вариации составляет 46,96–113,36%. При этом показатель точности опыта во всех случаях превышает 5%, что свидетельствует о большой вариативности данной характеристики и, безусловно, требует привлечения большего количества материала. Средняя длина и ширина листьев у большинства опытных побегов также вариативна, коэффициент вариации составляет 18,38–77,26% и 23,03–106,80%. При этом показатель точности опыта во многих случаях превышает 5%.

Размерно-весовые характеристики листьев *C. flagellaris*

№	Длина, см				Ширина, см				Масса, г				ЧЛ	МЛ
	M ± m <sub>M</sub>	tn <sub>M</sub>	V, %	P, %	M ± m <sub>M</sub>	tn <sub>M</sub>	V, %	P, %	m <sub>M</sub>	M ± m <sub>M</sub>	V, %	P, %		
1	7,00 ± 0,45	0,94	30,13	6,42	4,06 ± 0,31	0,64	35,45	7,56	0,42 ± 0,05	0,11	59,78	12,75	22	9,24
2	6,99 ± 1,51	3,12	77,26	21,56	4,91 ± 1,07	2,22	106,80	21,80	0,43 ± 0,10	0,20	113,36	23,14	24	10,32
3	6,36 ± 0,40	0,82	30,44	6,32	3,58 ± 0,23	0,48	32,83	6,57	0,32 ± 0,03	0,07	55,91	10,96	26	8,32
4	6,00 ± 0,34	0,69	34,99	5,68	3,78 ± 0,27	0,55	44,53	7,13	0,32 ± 0,04	0,08	79,29	12,70	24	7,68
5	6,72 ± 0,29	0,61	24,05	4,35	4,27 ± 0,29	0,60	30,16	6,74	0,43 ± 0,05	0,11	53,31	11,92	20	8,60
6	7,50 ± 0,42	0,86	30,06	5,58	4,60 ± 0,30	0,61	34,71	6,45	0,41 ± 0,04	0,09	55,74	10,35	29	11,89
7	6,83 ± 0,36	0,74	27,46	5,28	4,19 ± 0,27	0,56	33,64	6,47	0,38 ± 0,05	0,10	68,61	13,20	27	10,26
8	6,97 ± 0,36	0,75	23,78	5,19	4,31 ± 0,22	0,45	23,03	5,03	0,43 ± 0,04	0,09	46,96	10,25	21	9,03
9	5,97 ± 0,29	0,59	26,66	4,87	3,70 ± 0,22	0,46	33,33	6,09	0,32 ± 0,04	0,08	66,69	12,18	30	9,60
10	6,34 ± 0,27	0,55	28,41	4,33	3,70 ± 0,25	0,51	44,69	6,82	0,24 ± 0,03	0,06	78,46	11,96	43	10,32
11	6,79 ± 0,34	0,69	28,68	4,99	4,38 ± 0,29	0,60	38,64	6,73	0,34 ± 0,04	0,07	62,19	10,83	33	11,22
12	6,76 ± 0,36	0,74	31,30	5,37	3,99 ± 0,27	0,55	39,37	6,75	0,42 ± 0,05	0,09	62,75	10,76	34	14,28
13	6,93 ± 0,26	0,53	21,19	3,75	4,23 ± 0,23	0,47	30,98	5,48	0,43 ± 0,04	0,07	101,83	17,21	32	13,76
14	5,94 ± 0,26	0,53	25,29	4,40	3,75 ± 0,23	0,48	35,98	6,26	0,40 ± 0,04	0,09	62,20	10,83	33	13,2
15	7,78 ± 0,27	0,54	18,38	3,41	4,69 ± 0,21	0,42	23,73	4,41	0,44 ± 0,04	0,07	43,78	8,13	29	12,76

№	Длина, см				Ширина, см				Масса, г				ЧЛ	МЛ		
	$M \pm m_M$	$V, \%$	$P, \%$	$m_M$	$M \pm m_M$	$V, \%$	$P, \%$	$m_M$	$M \pm m_M$	$V, \%$	$P, \%$	$m_M$			$V, \%$	$P, \%$
16	$5,99 \pm 0,34$	35,45	5,75	0,70	$3,84 \pm 0,30$	47,73	7,74	0,60	$0,31 \pm 0,04$	83,54	13,55	0,09	83,54	13,55	38	11,78
17	$7,03 \pm 0,44$	32,20	6,31	0,91	$4,34 \pm 0,30$	34,98	6,86	0,61	$0,37 \pm 0,05$	64,18	12,59	0,10	64,18	12,59	26	9,62
18	$7,04 \pm 0,42$	34,50	5,92	0,85	$4,42 \pm 0,37$	49,37	8,47	0,76	$0,35 \pm 0,05$	81,04	13,90	0,10	81,04	13,90	34	11,9
19	$6,85 \pm 0,44$	28,63	6,40	0,92	$4,25 \pm 0,30$	31,40	7,02	0,62	$0,37 \pm 0,05$	62,75	14,03	0,11	62,75	14,03	20	7,40
20	$6,61 \pm 0,59$	34,51	8,91	1,26	$4,28 \pm 0,42$	37,84	9,77	0,90	$0,37 \pm 0,06$	66,09	17,06	0,14	66,09	17,06	15	5,55
ср	$6,74 \pm 0,11$	7,04	1,57	0,22	$4,19 \pm 0,08$	8,35	1,87	0,16	$0,38 \pm 0,01$	14,00	3,13	0,02	14,00	3,13	28	10,34

Примечание. Обозначения – как для таблицы 1.

Результаты измерения и взвешивания листьев *C. scandens* представлены в таблице 3. Исследованные побеги имеют от 17 до 72 листьев, в среднем – 42. При этом средняя масса листа составляет  $0,26 \pm 0,01$  г, у отдельных побегов достигая  $0,38 \pm 0,04$  г; минимальное среднее значение массы листа на побеге составляет  $0,15 \pm 0,02$  г. Масса листа колеблется от 0,01 до 1,20 г. Максимальное значение листовой продуктивности побега составляет 27,36 г; минимальное значение – 5,44 г, среднее – 10,82 г. Средняя длина листа составляет  $6,59 \pm 0,24$  см, минимальная на одном побеге –  $4,74 \pm 0,32$  см, максимальная –  $8,90 \pm 0,46$  см. Минимальная длина листа составляет 0,7 см, максимальная – 16,2 см. Средняя ширина листа составляет  $3,76 \pm 0,16$  см, минимальная средняя ширина листа на одном побеге –  $2,98 \pm 0,26$  см, максимальная –  $5,59 \pm 0,41$  см. Минимальная ширина листа составляет 0,3 см, максимальная – 10,5 см. В сравнении с данными литературы в условиях интродукции в Московском регионе размеры листьев более значительно вариативны.

Масса листьев весьма вариативна, коэффициент вариации составляет 38,87–104,53%. При этом показатель точности опыта во всех случаях превышает 5%, что также показывает на большую вариативность данной характеристики и, безусловно, требует привлечения большего количества материала. Средняя длина и ширина листьев у большинства опытных побегов также вариативна, коэффициент вариации составляет 20,84–60,67% и 21,50–75,06% соответственно. При этом показатель точности опыта в некоторых случаях превышает 5%.

**Размерно-весовые характеристики листьев *C. scandens***

№	Длина, см				Ширина, см				Масса, г				ЧЛ	МЛ
	M±m <sub>M</sub>	tm <sub>M</sub>	V, %	P, %	M±m <sub>M</sub>	tm <sub>M</sub>	V, %	P, %	M±m <sub>M</sub>	tm <sub>M</sub>	V, %	P, %		
1	7,64±0,26	0,53	22,18	3,42	4,17±0,21	0,43	32,82	5,06	0,25±0,02	0,04	48,12	7,43	42	10,50
2	6,33±0,24	0,49	24,43	3,86	3,53±0,16	0,33	29,04	4,59	0,22±0,02	0,03	48,46	7,66	40	8,80
3	6,97±0,33	0,67	24,41	4,70	3,99±0,25	0,51	32,11	6,18	0,31±0,03	0,06	48,92	9,41	27	8,37
4	7,57±0,40	0,82	36,52	9,78	3,90±0,27	0,54	46,68	6,81	0,25±0,02	0,05	67,03	9,78	47	11,75
5	7,67±0,29	0,60	20,84	3,81	4,46±0,18	0,36	21,50	3,93	0,36±0,03	0,05	38,87	7,10	30	10,80
6	6,48±0,24	0,48	26,66	3,70	3,39±0,14	0,29	30,41	4,22	0,21±0,01	0,03	48,38	6,71	52	10,92
7	6,45±0,34	0,70	32,95	5,35	3,73±0,26	0,52	42,89	6,96	0,21±0,02	0,05	72,63	11,78	38	7,98
8	5,30±0,29	0,59	34,37	5,50	3,43±0,26	0,53	47,93	7,68	0,29±0,03	0,06	59,87	9,59	39	11,31
9	5,61±0,38	0,78	43,77	6,84	2,98±0,26	0,53	56,40	8,81	0,15±0,02	0,05	93,82	14,65	41	6,15
10	6,65±0,33	0,67	34,48	4,94	3,43±0,26	0,53	43,43	7,56	0,20±0,02	0,05	69,67	12,13	33	6,60
11	6,45±0,33	0,66	33,56	5,06	3,43±0,23	0,46	43,63	6,58	0,26±0,02	0,05	62,54	9,43	44	11,44
12	4,74±0,32	0,64	43,61	6,65	3,10±0,28	0,57	60,00	9,15	0,25±0,03	0,07	86,54	13,20	43	10,75
13	7,40±0,45	0,90	38,59	6,03	5,59±0,41	0,82	46,46	7,23	0,33±0,04	0,08	78,51	12,26	41	13,53
14	8,90±0,46	0,91	43,43	5,12	4,78±0,32	0,63	56,20	6,62	0,38±0,04	0,07	78,86	9,29	72	27,36

№	Длина, см				Ширина, см				Масса, г				ЧЛ	МЛ
	$M \pm m_M$	$t_{m_M}$	V, %	P, %	$M \pm m_M$	$t_{m_M}$	V, %	P, %	$m_{m_M}$	$t_{m_M}$	V, %	P, %		
15	6,68±0,39	0,78	43,48	5,86	3,67±0,26	0,51	51,70	6,97	0,23±0,03	0,05	81,88	11,04	55	12,65
16	5,60±0,31	0,61	40,90	5,47	3,23±0,24	0,48	55,91	7,47	0,21±0,02	0,04	72,01	9,62	56	11,76
17	5,38±0,44	0,89	60,67	8,26	3,09±0,32	0,63	75,06	10,21	0,20±0,03	0,06	104,53	14,23	54	10,80
18	5,89±0,49	1,01	46,79	8,40	3,05±0,33	0,67	60,36	10,84	0,28±0,04	0,07	73,33	13,17	31	8,68
19	7,51±0,47	1,01	26,06	6,32	4,49±0,32	0,68	29,59	7,18	0,32±0,04	0,08	47,31	11,47	17	5,44
ср	6,59±0,24	0,50	15,71	3,60	3,76±0,16	0,33	18,25	4,19	0,26±0,01	0,03	23,52	5,40	42	10,82

**Примечание.** Обозначения – как для таблицы 1.

Результаты измерения и взвешивания листьев *C. strigillosus* представлены в таблице 4. На исследованных побегах развивается от 10 до 52 листьев, в среднем – 21. Средняя масса листа составляет  $0,42 \pm 0,03$  г, у отдельных побегов достигая  $0,72 \pm 0,07$  г, минимальное среднее значение массы листа на побеге –  $0,20 \pm 0,03$  г. Масса одного листа составляет 0,01–1,66 г. Листовая продуктивность побега – 8,75 г; ее минимальное значение – 5,00 г, максимальное – 29,12 г. Средняя длина листа составляет  $6,71 \pm 0,21$  см, при этом минимальная средняя длина листа на одном побеге –  $5,23 \pm 0,55$  см, а максимальная –  $8,95 \pm 0,40$  см. Минимальное значение длины листа – 1,4 см, максимальное – 11,6 см. Средняя ширина листа составляет  $4,89 \pm 0,21$  см, минимальная средняя ширина листа на одном побеге –  $3,48 \pm 0,26$  см, максимальная –  $6,58 \pm 0,44$  см. При этом минимальная ширина листа составляет 0,4 см, а максимальная – 11,4 см. В сравнении с данными литературы в условиях интродукции в Московском регионе ширина листьев более вариативна, а максимальной длины они не достигают.

Масса листьев имеет высокую вариативность, коэффициент вариации составляет 20,84–101,90%. Показатель точности опыта во всех случаях превышает 5%, что указывает на большую вариативность данной характеристики и, безусловно, требует привлечения большего количества материала. Вариативна также средняя длина и ширина листьев у большинства опытных побегов, коэффициент вариации составляет 13,16–83,08% и 17,98–63,63%. Показатель точности опыта во многих случаях для длины листа и во всех для ширины листа превышает 5%.

**Размерно-весовые характеристики листьев *C. strigillosus***

№	Длина, см				Ширина, см				Масса, г				ЧЛ	МЛ
	M±m <sub>M</sub>	tm <sub>M</sub>	V, %	P, %	M±m <sub>M</sub>	tm <sub>M</sub>	V, %	P, %	M±m <sub>M</sub>	tm <sub>M</sub>	V, %	P, %		
1	5,98±0,30	0,63	24,77	5,06	3,80±0,26	0,53	33,26	6,79	0,33±0,04	0,07	53,31	10,88	24	7,92
2	7,67±0,29	0,59	27,69	3,84	4,99±0,30	0,60	43,12	5,98	0,56±0,05	0,11	70,82	9,82	52	29,12
3	6,72±0,42	0,87	27,73	6,20	4,69±0,35	0,73	33,29	7,44	0,49±0,06	0,12	53,01	11,85	20	9,80
4	6,54±0,28	0,58	19,04	4,26	3,62±0,22	0,46	26,91	6,02	0,25±0,01	0,03	25,93	5,80	20	5,00
5	7,02±0,33	0,68	21,24	4,63	4,40±0,24	0,50	25,15	5,49	0,35±0,02	0,05	38,92	6,99	21	7,35
6	6,02±0,19	0,40	15,29	3,19	3,48±0,26	0,54	36,04	7,52	0,27±0,02	0,04	37,63	7,85	23	6,21
7	6,27±0,20	0,42	12,24	3,16	5,75±0,28	0,60	18,79	4,85	0,53±0,03	0,06	20,84	5,38	15	7,95
8	6,95±0,47	1,03	24,49	6,79	5,79±0,50	1,08	30,90	8,57	0,55±0,08	0,17	50,03	13,88	13	7,15
9	6,27±0,20	0,42	13,16	3,19	5,48±0,24	0,51	17,98	4,36	0,38±0,03	0,07	33,21	8,05	17	6,46
10	8,95±0,40	0,84	19,52	4,48	6,58±0,44	0,93	29,39	6,74	0,72±0,07	0,16	45,08	10,34	19	13,68
11	7,55±0,45	0,93	28,47	5,94	4,34±0,27	0,57	30,25	6,31	0,31±0,03	0,07	52,09	10,86	23	7,13
12	7,34±0,66	1,49	28,36	8,97	5,91±0,53	1,20	28,35	8,97	0,53±0,10	0,22	57,30	18,12	10	5,30
13	6,02±0,43	0,92	26,53	7,09	4,98±0,34	0,74	25,66	6,86	0,35±0,04	0,09	45,76	12,23	14	4,90
14	5,93±0,37	0,80	24,35	6,29	5,01±0,32	0,69	24,97	6,45	0,38±0,05	0,10	47,87	12,36	15	5,70

№	Длина, см				Ширина, см				Масса, г				ЧЛ	МЛ
	$M \pm m_M$	$t_{m_M}$	V, %	P, %	$M \pm m_M$	$t_{m_M}$	V, %	P, %	$M \pm m_M$	$t_{m_M}$	V, %	P, %		
15	$7,91 \pm 0,62$	1,37	25,80	7,78	$6,36 \pm 0,52$	1,15	26,98	8,14	$0,61 \pm 0,08$	0,18	44,01	13,27	11	6,71
16	$7,09 \pm 0,52$	1,09	31,00	7,31	$5,25 \pm 0,39$	0,82	31,22	7,36	$0,58 \pm 0,06$	0,13	43,40	10,23	18	10,44
17	$5,23 \pm 0,55$	1,12	53,25	10,44	$3,72 \pm 0,46$	0,95	63,63	12,48	$0,23 \pm 0,05$	0,09	101,90	19,98	26	5,98
18	$6,68 \pm 0,44$	0,90	83,08	13,48	$4,72 \pm 0,46$	0,94	60,40	9,80	$0,36 \pm 0,05$	0,10	83,08	13,48	38	13,68
19	$5,35 \pm 0,43$	0,87	42,91	7,97	$3,99 \pm 0,33$	0,68	44,96	8,35	$0,20 \pm 0,03$	0,06	80,30	14,91	29	5,80
ср	$6,71 \pm 0,21$	0,44	13,75	3,15	$4,89 \pm 0,21$	0,45	19,14	4,39	$0,42 \pm 0,03$	0,07	35,10	8,05	21	8,75

Примечание. Обозначения – как для таблицы 1.

Результаты измерения и взвешивания листьев *C. orbiculatus* var. *punctatus* представлены в таблице 5. Число листьев у исследованных побегов колеблется от 15 до 82, в среднем – 41. В среднем масса листа составляет  $0,24 \pm 0,01$  г; ее максимальное значение –  $0,33 \pm 0,04$  г, минимальное –  $0,17 \pm 0,02$  г. Значение массы одного листа составляет от 0,01 до 0,86 г. Листовая продуктивность побега в среднем составляет 9,95 г, при этом ее минимальное значение – 4,60 г, а максимальное – 20,54 г. Среднее значение длины листа –  $5,73 \pm 0,18$  см, минимальная средняя длина листа для одного побега –  $5,94 \pm 0,26$  см, максимальное –  $7,26 \pm 0,37$  см. Длина листа составляет от 0,7 до 12,0 см. Средняя ширина листа  $3,34 \pm 0,09$  см, минимальная средняя ширина листа на одном побеге –  $2,33 \pm 0,15$  см, максимальная –  $4,34 \pm 0,30$  см. Ширина листа составляет от 0,1 до 8,0 см. В сравнении с данными литературы в условиях интродукции в Московском регионе размеры листьев вариативны более значительно.

Масса листьев имеет высокую вариативность, коэффициент вариации составляет 54,93–102,29%, показатель точности опыта во всех случаях превышает 5%, что указывает на необходимость привлечения большего количества материала для исследования. Вариативны также средняя длина и ширина листьев у большинства опытных побегов, коэффициент вариации – 10,19–52,64% и 30,59–60,76%. Показатель точности опыта во многих случаях для длины листа и во всех случаях для ширины превышает 5%.

Размерно-весовые характеристики листьев *S. orbiculatus* var. *punctatus*

№	Длина, см			Ширина, см			Масса, г				ЧЛ	МЛ
	$M \pm m_M$	$V, \%$	$P, \%$	$M \pm m_M$	$V, \%$	$P, \%$	$M \pm m_M$	$t_{m_M}$	$V, \%$	$P, \%$		
1	6,11±0,13	32,10	2,05	3,63±0,24	0,48	41,64	0,28±0,03	0,06	66,07	10,32	41	11,48
2	4,88±0,35	44,35	7,10	2,73±0,25	0,50	56,69	0,17±0,02	0,04	71,92	11,52	39	6,63
3	5,90±0,30	34,64	5,05	3,49±0,21	0,42	40,52	0,28±0,03	0,05	63,54	9,27	47	13,16
4	6,09±0,29	29,22	4,80	3,53±0,19	0,38	32,72	0,26±0,02	0,05	54,93	9,03	37	9,62
5	5,24±0,36	47,28	6,82	2,89±0,20	0,41	48,65	0,17±0,01	0,03	59,07	8,53	48	8,16
6	5,62±0,36	31,01	6,47	3,35±0,28	0,58	39,85	0,20±0,03	0,06	75,51	15,75	23	4,60
7	6,40±0,29	24,64	4,58	3,54±0,20	0,41	30,59	0,29±0,03	0,07	59,39	11,03	29	8,41
8	5,89±0,26	30,31	4,37	3,26±0,17	0,33	35,03	0,29±0,02	0,05	58,44	8,43	48	13,92
9	5,45±0,43	32,68	7,93	3,44±0,29	0,63	34,44	0,17±0,02	0,05	57,21	13,88	17	2,89
10	5,23±0,63	46,62	12,04	3,49±0,37	0,80	41,65	0,22±0,06	0,12	102,29	26,41	15	3,30
11	5,66±0,27	27,38	4,70	3,17±0,25	0,50	45,39	0,24±0,03	0,05	66,97	11,49	34	8,16
12	5,55±0,29	28,09	5,31	3,49±0,24	0,48	35,86	0,20±0,03	0,06	80,75	15,26	28	5,60
13	5,67±0,26	35,84	5,03	3,41±0,20	0,41	41,13	0,25±0,02	0,05	67,70	9,77	48	12,00
14	7,26±0,37	30,13	5,17	3,96±0,26	0,53	38,34	0,33±0,04	0,07	64,83	11,12	34	11,22
15	5,62±0,41	40,99	7,23	3,48±0,27	0,56	44,25	0,28±0,03	0,06	60,99	10,78	32	8,96
16	5,22±0,33	52,64	5,81	3,11±0,21	0,42	60,76	0,25±0,03	0,05	100,33	11,08	82	20,50
17	7,03±0,44	32,20	6,31	4,34±0,30	0,61	34,98	0,26±0,02	0,04	72,26	8,13	79	20,54
18	3,69±0,19	39,10	5,18	2,33±0,15	0,30	49,16	0,17±0,01	0,03	60,40	8,00	57	9,69

№	Длина, см			Ширина, см			Масса, г				ЧЛ	МЛ	
	$M \pm m_M$	$V, \%$	$P, \%$	$M \pm m_M$	$V, \%$	$P, \%$	$m_M$	$V, \%$	$P, \%$	$M \pm m_M$			$V, \%$
19	$6,30 \pm 0,33$	10,19	5,28	$3,46 \pm 0,22$	40,60	6,34	0,44	40,60	6,34	$0,31 \pm 0,03$	70,42	11,00	12,71
20	$5,53 \pm 0,28$	29,59	5,00	$2,86 \pm 0,19$	38,41	6,49	0,38	38,41	6,49	$0,21 \pm 0,02$	57,73	9,76	7,35
ср	$5,73 \pm 0,18$	13,96	3,12	$3,34 \pm 0,09$	12,61	2,82	0,20	12,61	2,82	$0,24 \pm 0,01$	20,95	4,68	9,95

Примечание. Обозначения – как для таблицы 1.

Наибольшее число листьев имеют побеги *C. orbiculatus* var. *punctatus* – 82. Наименьшее число листьев у побегов *C. strigillosus* – 10 (рис. 1). При этом среднее число листьев возрастает в такой последовательности: *C. strigillosus* – 21; *C. flagellaris* – 28; *C. rugosus* – 31; *C. orbiculatus* var. *punctatus* – 41; *C. scandens* – 42. Наибольшая средняя масса листа у *C. Strigillosus* –  $0,42 \pm 0,03$  г, у отдельных побегов достигая  $0,72 \pm 0,07$  г (рис. 2). Наименьшая средняя масса листа у *C. orbiculatus* var. *punctatus* –  $0,24 \pm 0,01$  г. Минимальное среднее значение массы листа на побеге у *C. scandens* –  $0,15 \pm 0,02$  г. Минимальным значением массы одного листа у всех изученных таксонов является 0,01 г. Наибольшую массу имеет лист *C. strigillosus* – 1,66 г. Средняя листовая продуктивность побега возрастает в такой последовательности: *C. strigillosus* – 8,75 г; *C. orbiculatus* var. *punctatus* – 9,95 г; *C. rugosus* – 10,23 г; *C. flagellaris* – 10,64 г; *C. scandens* – 10,92 г (рис. 3). При этом минимальное значение данного показателя у конкретных побегов наблюдается у *C. orbiculatus* var. *punctatus* (4,60 г), а максимальное – у *C. Scandens* (29,12 г).

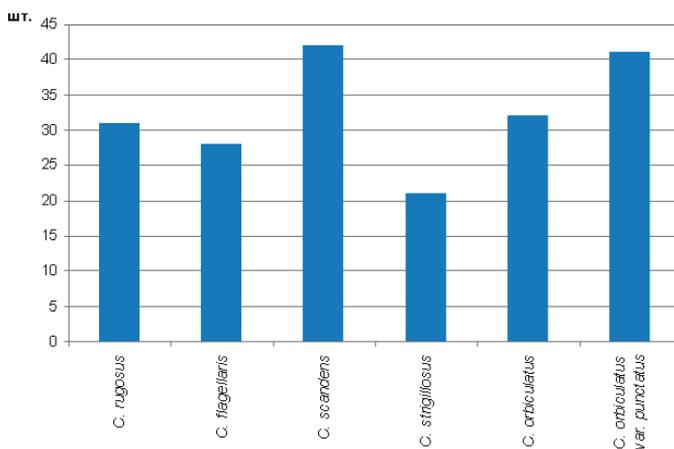


Рис. 1. Число листьев на побегах *Celastrus*, шт.

Наибольшую среднюю длину имеет лист *C. flagellaris* ( $6,74 \pm 0,11$  см), наименьшую – лист *C. orbiculatus* var. *punctatus* ( $5,73 \pm 0,18$  см) (рис. 4). Минимальная средняя длина листа на одном побеге – у *C. rugosus* ( $4,19 \pm 0,41$  см), максимальная – у *C. strigillosus* ( $8,95 \pm 0,40$  см). Минимальная и максимальная длина листа у *C. scandens* составляет 0,7 и 16,2 см соответственно. Наибольшую среднюю ширину имеет лист *C. strigillosus* ( $4,89 \pm 0,21$  см), наименьшую – лист *C. orbiculatus* var. *punctatus* ( $3,34 \pm 0,09$  см). Минимальная средняя ширина листа на одном побеге у *C. orbiculatus* var. *punctatus*

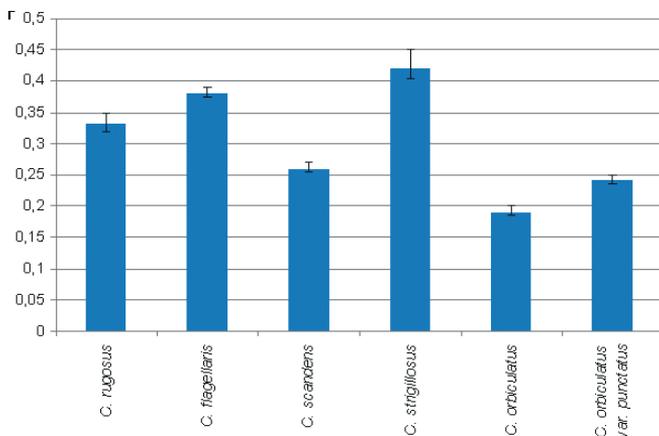


Рис. 2. Масса листьев *Celastrus*, г

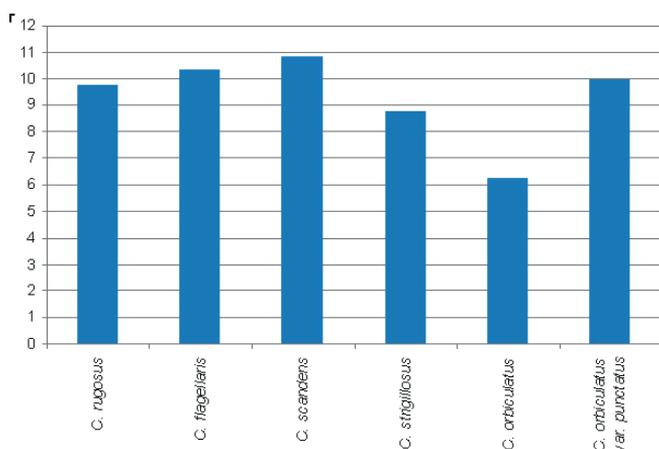


Рис. 3. Листовая продуктивность побегов *Celastrus*, г

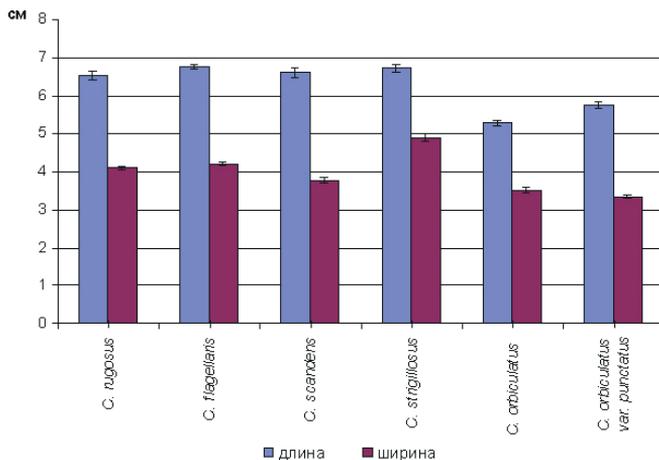


Рис. 4. Размеры листьев *Celastrus*, см

составляет  $2,33 \pm 0,15$  см, максимальная – у *C. strigillosus* ( $6,58 \pm 0,44$  см). Минимальная ширина листа у *C. orbiculatus* var. *punctatus* составляет 0,1 см, максимальная ширина листа – у *C. strigillosus* (11,4 см). Листья всех изученных таксонов весьма вариативны как по размерным показателям, так и по массе. Листья *C. strigillosus* являются наиболее крупными, при этом число их на побегах минимально, как и средняя масса листьев с одного побега. *C. orbiculatus* var. *punctatus* имеет листья наименьших размеров, но развивающиеся у побега в большом числе.

По числу листьев на побеге *C. orbiculatus* var. *punctatus* и *C. scandens* превышают таковой показатель для *C. orbiculatus* [8]. По средней массе листа, средней массе листьев на одном побеге и длине листа изученные виды превышают *C. orbiculatus*. По средней ширине листа *C. orbiculatus* уступает лишь *C. orbiculatus* var. *punctatus*.

**Выводы**

В условиях Московского региона *C. rugosus*, *C. flagellaris*, *C. scandens*, *C. strigillosus* и *C. orbiculatus* var. *punctatus* имеют высокую продуктивность листовой массы. Листья всех изученных таксонов весьма вариативны по массе и размерным показателям. Наибольшее число листьев имеют побеги *C. orbiculatus* var. *punctatus* (42), наименьшее – *C. strigillosus* (21). Наибольшая средняя масса листа – у *C. strigillosus* ( $0,42 \pm 0,03$  г), наименьшая – у *C. orbiculatus* var. *punctatus* ( $0,24 \pm 0,01$  г). Средняя листовая продуктивность побега

возрастает в последовательности: *C. strigillosus* (8,75 г) → *C. orbiculatus* var. *punctatus* (9,95 г) → *C. rugosus* (10,23 г) → *C. flagellaris* (10,64 г) → *C. scandens* (10,92 г). Наибольшую среднюю длину имеет лист *C. flagellaris* ( $6,74 \pm 0,11$  см), наименьшую – лист *C. orbiculatus* var. *punctatus* ( $5,73 \pm 0,18$  см). Наибольшая средняя ширина – у листа *C. strigillosus* ( $4,89 \pm 0,21$  см), наименьшая – у листа *C. orbiculatus* var. *punctatus* ( $3,34 \pm 0,09$  см). *C. orbiculatus* отличается от остальных изученных видов наименьшими показателями длины листа, средней массы листа, средней массы листьев на одном побеге и средней листовой продуктивности побега.

Таким образом, *C. rugosus*, *C. flagellaris*, *C. scandens*, *C. strigillosus* и *C. orbiculatus* var. *punctatus*, интродуцированные в условиях Московского региона, по показателю продуктивности листовой массы могут быть рекомендованы для дальнейшего изучения в качестве лекарственного сырья.

*Исследования выполнены при частичной финансовой поддержке Министерства сельского хозяйства РФ в рамках госзадания РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022 г. № 133–1.*

### Библиографический список

1. Бандюкова В.А., Сергеева Н.В. Состояние химического изучения растений порядка Celastrales // Растительные ресурсы. – 1977. – Т. 13. – Вып. 3. – С. 560–569.
2. Герифорте вет жидкость // Справочник лекарственных средств. – [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.vidal.ru/veterinar/geriforte-vet-liquid-28116#composition> (дата обращения: 27.09.2022).
3. Герифорте // Средства аюрведы. – [Электронный ресурс]. – URL: <https://himalaya.ru/product/geriforte/> (дата обращения: 30.09.2022).
4. Древесные растения Главного ботанического сада им Н.В. Цицина РАН: 60 лет интродукции. – М.: Наука, 2005. – 586 с.
5. Зайцев Г.Н. Математика в экспериментальной ботанике. – М.: Наука, 1990. – 256 с.
6. Костина М.В., Савинов И.А. Строение и ритм развития генеративных побегов в роде *Celastrus* L. (Celastraceae R.Br.) // Бюллетень Главного ботанического сада РАН. – 2002. – Вып. 183. – С. 31–40.
7. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. – Т. 3. Семейства Fabaceae – Ариасеae // Семейство Celastraceae / Сост. Л.И. Шагова, А.Л. Буданцев, Т.А. Орлова; Отв. ред. А.Л. Буданцев. – М. – СПб.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. – 601 с.
8. Савинов И.А., Соломонова Е.В., Трусов Н.А., Симаков Г.А. Продуктивность листовой массы *Celastrus orbiculatus* Thunb. (Celastraceae) в условиях Московского региона // Вестник КрасГАУ. – 2022. – Вып. 12 (в печати).
9. Химколин. Инструкция по применению. – [Электронный ресурс]. – URL: [https://speman-shop.ru/Himcolin\\_instruction.pdf](https://speman-shop.ru/Himcolin_instruction.pdf) (дата обращения: 25.09.2022).
10. Шульгина В.В. Род Древогубец, или Краснопузырник – *Celastrus* L. // Соколов С.Я. (ред.). Деревья и кустарники СССР. – 1958. – Т. 4. – С. 391–397.
11. Chang R. et al. Chemical components of the stems of *Celastrus rugosus* / R. Chang, C. Wang, Q. Zeng, B. Guan, W. Zhang, H. Jin // Pharmacal Research. – 2013. – Vol. 36. – P. 1291–1301.
12. Ding Hou. A revision of the genus *Celastrus* // Ann. Miss. Bot. Gard. – 1955. – Vol. 42, № 3. – P. 215–302.
13. Duke J.A., Ayensu E.S. Medicinal Plants of China. Reference Publications. – 1985. – 705 p.

14. Foster S., Duke J.A. A Field Guide to Medicinal Plants. Houghton Mifflin Co. – 1990. – 411 p.
15. Godkar P.B., Gordon R.K., Ravindran A., Doctor B.P. *Celastrus paniculatus* seed oil and organic extracts attenuate hydrogen peroxide- and glutamate-induced injury in embryonic rat forebrain neuronal cells // *Phytomedicine*. – 2006. – 13 (1–2). – P. 29–36.
16. Kanao M., Shimokoriyama N. A flavones glycoside of *Celastrus orbiculata* // *Acta phytochem.* – 1949. – № 15. – P. 229.
17. Maurya H., Arya R.K.K., Belwal T., Rana M., Kumar A. *Celastrus paniculatus* // *Naturally Occurring Chemicals Against Alzheimer's Disease*. – 2021. – P. 425–435.
18. Mu X. – Y., Zhao L. – C., Zhang Z. – X. Phylogeny of *Celastrus* L. (Celastraceae) inferred from two nuclear and three plastid markers // *J Plant Res.* – 2012. – № 125. – P. 619–630.
19. Rzadkowska-Bodalska H. Flawonoidy w lisciach *Celastrus orbiculata* Thunb // *Rocz. chem.* – 1970. – № 44 (2). – P. 283.

## BOTANICAL EVALUATION OF MEDICINAL POTENTIAL OF BITTERSWEETS (*CELASTRUS* L.)

I.A. SAVINOV<sup>1</sup>, E.V. SOLOMONOVA<sup>1</sup>, N.A. TRUSOV<sup>2</sup>, G.A. SIMAKOV<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy;  
<sup>2</sup>N.V.Tsitsin's Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences)

*The genus Celastrus L. (bittersweets) includes about 35 species of woody lianas, growing in Australia, Madagascar, America and Asia, including Russian Far East. Some species, used in Russia and abroad for vertical gardening are not only decorative, but partially edible and even medicinal. The content of biologically active compounds in the leaves and other structures of bittersweets has been studied fragmentarily. Cyclitol, catechins, and glycosides of kaempferol and quercetin were found in plants. It is known about the use of bittersweets in folk and modern medicine in Russia, as well as India, China and other Asian countries. Information on leaf productivity of species, growing in Moscow region, is not enough. Comparative botanical evaluation of shoots and leaves of four species and one variety of bittersweets from collection of N.V. Tsitsin's Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences was carried out. A total of 19–20 shoots of each taxon – C. rugosus, C. flagellaris, C. scandens, C. strigillosus and C. orbiculatus var. punctatus – were studied. In each taxon the shape of leaves, their number on shoot were determined; mass, length and width of the leaf were studied. The average, maximum and minimum morphometric values were determined and statistically processed. The leaves were found to vary greatly in shape, number per shoot (from 42 for C. orbiculatus var. punctatus to 21 for C. strigillosus), average weight (from 0.42 ± 0.03 for C. strigillosus to 0.24 ± 0.01 g for C. orbiculatus var. punctatus), average weight per shoot (from 8.82 g for C. strigillosus to 10.92 g for C. scandens), average length (from 6.74 ± 0.11 cm for C. flagellaris to 5.73 ± 0.18 cm for C. orbiculatus var. punctatus) and average width (from 4.89 ± 0.21 cm for C. strigillosus to 3.34 ± 0.09 cm for C. orbiculatus var. punctatus). Despite the significant variability of leaves, C. rugosus, C. flagellaris, C. scandens, C. strigillosus, introduced in Moscow region, and C. orbiculatus var. punctatus, having the lowest leaf productivity, can be recommended for further study as a medicinal raw material.*

**Key words:** bittersweets, *Celastrus*, *Celastraceae*, botanical evaluation, shoots, leaves, medicinal potential, Moscow region.

*The research was partially financially supported by Ministry of Agriculture of Russian Federation within the framework of state task of 2022 on topic of Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev № 133–1.*

## References

1. Bandyukova V.A., Sergeeva N.V. Sostoyanie khimicheskogo izucheniya rasteniy porjadka Celastrales [state of the chemical study of plants of the order Celastrales]. Rastitel'nye resursy. 1977; 13 (3): 560–569. (In Rus.)
2. Geriforte vet zhidkost' [Geriforte vet liquid]. Spravochnik lekarstvennykh sredstv. [Electronic source]. URL: <https://www.vidal.ru/veterinar/geriforte-vet-liquid-28116#composition> (Access date: 27.09.2022). (In Rus.)
3. Geriforte [Geriforte]. Sredstva ayurvedy. [Electronic source]. URL: <https://himalay.ru/product/geriforte/> (Access date: 30.09.2022). (In Rus.)
4. Drevesnye rasteniya Glavnogo botanicheskogo sada im N.V. Tsitsina RAN: 60 let introduksii [Woody plants of N.V. Tsitsin's Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences: 60 years of introduction]. M.: Nauka, 2005: 586. (In Rus.)
5. Zaytsev G.N. Matematika v eksperimental'noy botanike [Mathematics in experimental botany]. M.: Nauka, 1990: 256. (In Rus.)
6. Kostina M.V., Savinov I.A. Stroenie i ritm razvitiya generativnykh pobegov v rode *Celastrus* L. (Celastraceae R.Br.) [Structure and rhythm of the development of generative shoots in the genus *Celastrus* L. (Celastraceae R.Br.)]. Byull. Glavnogo botanicheskogo sada RAN. 2002; 183: 31–40. (In Rus.)
7. Shagova L.I., Budantsev A.L., Orlova T.A. Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushhie tsvetkovye rasteniya, ikh komponentnyi sostav i biologicheskaya aktivnost' T. 3. Semeystva Fabaceae – Apiaceae [Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity V. 3. Fabaceae – Apiaceae families]. Ed. by A.L. Budantsev. M. – SPb: Tov-vo nauchn. izd. KMK, 2010: 601. (In Rus.)
8. Savinov I.A., Solomonova E.V., Trusov N.A., Simakov G.A. Produktivnost' listovoy massy *Celastrus orbiculatus* Thunb. (Celastraceae) v usloviyakh Moskovskogo regiona [Productivity of leaf mass of *Celastrus orbiculatus* Thunb. (Celastraceae) in the conditions of the Moscow region]. Vestnik KrasGAU. 2022; 12 (v pečati). (In Rus.)
9. Khimkolin, instruktsiya po primeneniyu [Himkolin, instructions for use]. [Electronic source]. URL: [https://speman-shop.ru/Himcolin\\_instruction.pdf](https://speman-shop.ru/Himcolin_instruction.pdf) (Access date: 25.09.2022). (In Rus.)
10. Shul'gina V.V. Rod Drevogubets, ili Krasnopuzyrnik – *Celastrus* L. [Bittersweet or stafftree – *Celastrus* L.]. Ed. By Sokolov S.Ya. Derev'ya i kustarniki SSSR. 1958; 4: 391–397. (In Rus.)
11. Chang R., Wang C., Zeng Q., Guan B., Zhang W., Jin H. Chemical components of the stems of *Celastrus rugosus*. Pharmacol Research. 2013; 36: 1291–1301.
12. Ding Hou. A revision of the genus *Celastrus*. Ann. Miss. Bot. Gard. 1955; 42 (3): 215–302.
13. Duke J.A., Ayensu E.S. Medicinal Plants of China. Reference Publications, 1985: 705.
14. Foster S., Duke J.A. A Field Guide to Medicinal Plants. Houghton Mifflin Co., 1990: 411.
15. Godkar P.B., Gordon R.K., Ravindran A., Doctor B.P. *Celastrus paniculatus* seed oil and organic extracts attenuate hydrogen peroxide- and glutamate-induced injury in embryonic rat forebrain neuronal cells. Phytomedicine. 2006; 13 (1–2): 29–36.
16. Kanao M., Shimokoriyama N. A flavones glycoside of *Celastrus orbiculata*. Acta phytochem. 1949; 15: 229.
17. Maurya H., Arya R.K.K., Belwal T., Rana M., Kumar A. *Celastrus paniculatus*. Naturally Occurring Chemicals Against Alzheimer's Disease. 2021: 425–435.
18. Mu X. – Y., Zhao L. – C., Zhang Z. – X. Phylogeny of *Celastrus* L. (Celastraceae) inferred from two nuclear and three plastid markers. J Plant Res. 2012; 125: 619–630.
19. Rzadkowska-Bodalska H. Flavonoids in leaves of *Celastrus orbiculata* Thunb. Roczn. chem. 1970; 44 (2): 283.

**Иван Алексеевич Савинов**, профессор кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, д-р биол. наук, доцент; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевская ул., 49; e-mail: savinovia@mail.ru; тел.: (906) 032–73–04

**Екатерина Владимировна Соломонова**, доцент кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, канд. биол. наук, доцент; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевская ул., 49; e-mail: solomonova@rgau-msha.ru; тел.: (903) 173–55–54

**Николай Александрович Трусов**, старший научный сотрудник лаборатории дендрологии ГБС им. Н.В. Цицина РАН, канд. биол. наук; 127276, Российская Федерация, г. Москва, Ботаническая ул., 4; e-mail: n-trusov@mail.ru; тел.: (917) 525–77–68

**Григорий Александрович Симаков**, студент Института садоводства и ландшафтной архитектуры РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевская ул., 49; e-mail: sim.gr@gmail.ru; тел.: (977) 292–39–92

**Ivan A. Savinov**, DSc (Bio), Associate Professor, Professor of the Department of Botany, Breeding and Seed Production of Horticultural Crops, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (906) 032–73–04; E-mail: savinovia@mail.ru)

**Ekaterina V. Solomonova**, PhD (Bio), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Botany, Breeding and Seed Production of Horticultural Crops, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (903) 173–55–54; E-mail: solomonova@rgau-msha.ru)

**Nikolay A. Trusov**, Senior Research Associate of the Laboratory of Dendrology, N.V. Tsitsin's Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (4 Botanicheskaya Str., Moscow, 127276, Russian Federation; phone: (917) 525–77–68; E-mail: n-trusov@mail.ru)

**Grigoriy A. Simakov**, student of Institute of Horticulture and Landscape Architecture, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (977) 292–39–92; E-mail: sim.gr@gmail.ru)

ОПТИМИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ  
ДИАГНОСТИКИ ГРИБОВ РОДА *SCLEROTINIA*С.А. БЛИНОВА<sup>1,2</sup>, М.Л. КОНЫШЕВА<sup>2</sup>, А.А. ШВАРЦЕВ<sup>2,3</sup>,  
А.А. СОЛОВЬЕВ<sup>1</sup>, Я.И. АЛЕКСЕЕВ<sup>2</sup>, Е.С. МАЗУРИН<sup>4</sup>

(<sup>1</sup> ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии)  
<sup>2</sup> ООО «НПФ Синтол»  
<sup>3</sup> РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева  
<sup>4</sup> ООО «Сингента»)

Грибы являются возбудителями множества болезней растений, наносящих значительный ущерб урожаю и приводящих к существенным экономическим потерям. Одними из самых широко распространенных и опасных патогенов являются грибы рода *Sclerotinia*. Представители данного рода способны поражать большинство важных сельскохозяйственных культур ввиду отсутствия у последних устойчивости, что впоследствии приводит к гибели растений. В связи с этим необходимо проводить диагностику растительного материала на наличие грибов данного рода. Целью исследований являлась апробация разработанных систем праймеров и зондов для выявления наиболее опасных представителей рода *Sclerotinia* – таких, как *S. sclerotiorum*, *S. nivalis*, *S. borealis* и *S. minor*. Проверка проводилась как на заведомо положительных образцах культур грибов, так и на растениях с полей (в частности, озимой пшеницы – для проведения скринингового исследования и определения уровня зараженности *S. borealis*). Материалом для исследований послужили 24 образца грибов, относящихся к роду *Sclerotinia*, полученные из ООО «Сингента», и 37 образцов озимой пшеницы из разных мест возделывания. Определение видовой принадлежности культур грибов осуществлялось методом секвенирования по Сенгеру с использованием разработанных пар праймеров на участок гена  $\beta$ -tubulin (*tub*) и фрагмент кластера генов *rRNA*. Дополнительно были сконструированы олигонуклеотиды для проведения видовой дифференциации вида *S. borealis* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). При определении аналитических характеристик набора было показано отсутствие ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Проведение скрининговых исследований 37 образцов озимой пшеницы показало наличие нуклеиновых кислот исследуемого патогена у 24,3% проанализированных образцов. При проведении исследования не было обнаружено сильно зараженных образцов, что говорит о нахождении патогена в начальной фазе его развития.

**Ключевые слова:** *Sclerotinia*, грибы, ПЦР, набор реагентов, озимая пшеница, зараженность, диагностика.

**Введение**

Грибы рода *Sclerotinia* являются одними из самых опасных патогенов растений. Повсеместное распространение, широкий круг растений-хозяев, отсутствие высокого уровня резистентности к исследуемым видам грибов, трудность в борьбе

с болезнями, вызванными *Sclerotinia*, и существенный ущерб посевам способствуют необходимости детального изучения данного патогена [17].

Грибы рода *Sclerotinia* поражают большое количество видов растений включая полевые и плодовые культуры, декоративные растения, деревья, кустарники и сорные растения. Ежегодные потери урожая от болезней, вызванных данной группой фитопатогенов, оцениваются в несколько сотен миллионов долларов. Потери урожая восприимчивых культур варьируются и могут достигать 100% [19]. Несмотря на то, что грибы данного рода чаще всего встречаются в регионах с прохладным влажным климатом, поступают сообщения о вспышках заболеваний, вызванных этими грибами, в засушливых регионах. Даже при наличии неблагоприятного для патогена климата заражение может происходить в летние месяцы на орошаемых полях.

Основным источником инфекции являются аскоспоры. Грибы рода *Sclerotinia* sp., хотя и способны продуцировать микроконидии, их роль в первичном распространении патогена и его жизненном цикле изучена недостаточно. Вторичное распространение происходит путем роста мицелия между основаниями стеблей или при контакте надземных частей зараженных растений со здоровыми в конце вегетационного периода [20].

Склеротиниоз, или белая гниль, – грибное заболевание, вызываемое представителями рода *Sclerotinia*, в котором наибольший интерес в качестве объекта изучения представляют два близкородственных вида: *S. sclerotiorum* ((Libert) de Bary, 1884) и *S. minor* (Jagger, 1920).

Типичные видимые симптомы болезни – наличие водянистой мягкой гнили стеблей и листьев. *S. sclerotiorum* – опасный и разрушительный фитопатоген, с широким кругом растений хозяев из различных семейств: *Solanaceae*, *Cruciferae*, *Compositae*, *Chenopodiaceae* и *Leguminosae* [2, 22]. *S. minor* поражает аналогичные культуры, но имеет более узкий диапазон восприимчивых растений и представляет наибольшую опасность для таких сельскохозяйственных культур? как салат, подсолнечник, шпинат, томаты, перец и арахис [2, 15].

Грибы рода *Sclerotinia* – некротрофные грибные патогены, способные поражать растения на любом этапе вегетационного периода. Помимо этого, они могут заражать плоды в хранилищах, что приводит к заметному снижению их качества. Кроме того, большую часть жизни представители *Sclerotinia* sp. могут проводить в виде склероций – твердых меланизированных структур, позволяющих им сохраняться в почве или растительных остатках в течение длительного времени (около 5 лет) [18]. Эти структуры являются частью механизма выживания в неблагоприятных внешних условиях или в случае отсутствия растения-хозяина и способствуют дальнейшему заражению всех последующих культур [3, 27].

Склероции *S. sclerotiorum* обычно имеют диаметр 2–5 мм, в то время как у *S. minor* образуются небольшие склероции диаметром 0,5–2 мм. В условиях повышенной влажности и температурного режима в пределах 4–18°C склероции в пределах верхнего слоя почвенного профиля прорастают, формируя апотеции. Апотеции представляют собой чашеобразные желтовато-коричневые структуры диаметром 3–5 мм, способные производить большое количество половых спор – аскоспор [1, 18, 26]. Аскоспоры способны колонизировать надземные части растений, используя их в качестве источника питательных веществ, вызывая при этом стеблевую гниль, пятнистость цветков, гниль плодов и т.д. [10, 11].

Первыми признаками заражения *S. sclerotiorum* является появление темных пятен или водянистых поражений, которые со временем могут неравномерно распространяться и даже опоясывать стебли, что приводит к увяданию и гибели растений. Инфицированные ткани имеют мягкую водянистую структуру и могут густо покрываться белым мицелием как внутри, так и снаружи. По мере прогрессирования болезни ткани растения иссушаются и выглядят обесцвеченными [11, 18]. Возникновение

корневых и прикорневых инфекций, вызванных грибами рода *Sclerotinia*, связано с прорастанием склероциев, находящихся в почве [5].

*S. borealis* (Bubák и Vleugel, 1917) является не менее разрушительным патогеном, поражающим более 17 родов растений из семейств *Alliaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Campanulaceae*, *Fabaceae*, *Iridaceae*, *Pinaceae* и *Poaceae*. В отличие от упомянутых ранее видов, являющихся космополитами, этот фитопатогенный гриб является психрофилом, в его ареал входят Япония, Россия, страны Северной Америки, Скандинавии, ограничен Северным полярным кругом. *S. borealis* поражает растения в состоянии покоя под снежным покровом, вызывая «снежную плесень», при этом оптимальная температура роста составляет 4–10°C [8, 14].

По сравнению с другими видами *S. nivalis* (Saito, 1997) является наименее изученным патогеном. Основное отличие от близкородственных видов – охват более узкого круга растений-хозяев: *Arctium lappa*, *Chrysanthemum morifolium*, *Ambrosia elatior*, *Angelica acutiloba*, *Ajuga reptans*, *Plantago lanceolata*, *Aralia elata*, *Atractylodes japonica*, *Daucus carota*, *Lactuca sativa*, *Panax ginseng*, *Pulsatilla koreana*, *Sedum sarmentosum* [13, 24].

Заболевания, вызванные представителями рода *Sclerotinia*, трудно поддаются контролю и прогнозированию. У большинства поражаемых сельскохозяйственных культур устойчивость к грибам рода *Sclerotinia* отсутствует. Вспышки инфекций, вызванных аскоспорами, носят, как правило, случайный характер и зависят от внешних условий [4]. Для эффективной защиты большинства сельскохозяйственных культур от патогенных грибов рода *Sclerotinia* применяется комплекс мер: использование здорового посадочного материала, агротехнических методов, обработки фунгицидами [6]. Стоит отметить, что такой подход эффективен только для культур с детально изученным циклом развития инфекции, на основе которого разрабатываются системы мониторинга и прогнозирования [20, 21].

Идентификация представителей рода *Sclerotinia* на основе морфологических признаков (характерных особенностей, размера склероциев, асков и аскоспор, растений-хозяев, симптомов заражения) не всегда является точной, особенно при идентификации близкородственных видов [25]. Для своевременного обнаружения грибов рода *Sclerotinia* необходимы высокоспецифичные и чувствительные системы диагностики.

Несмотря на широкое распространение и опасность грибов рода *Sclerotinia*, на сегодняшний день отмечается недостаточность исследований, посвященных молекулярной диагностике. Одно из крупных исследований было опубликовано в 2011 г. и посвящено секвенированию полного генома *S. sclerotiorum* [25]. По остальным видам основная часть работ нацелена на сравнение нуклеотидных последовательностей генов, полученных от изолятов из разных стран. Авторы данных работ делают упор на изучение однонуклеотидных полиморфизмов с последующим влиянием их на аминокислотные последовательности белков [7]. Большинство нуклеотидных последовательностей грибов рода *Sclerotinia* в базе данных NCBI GenBank принадлежит изолятам, обнаруженным в странах Азии. Изучение вышеописанного рода грибов в Европейской части материка позволит определить однонуклеотидные замены и проследить пути распространения данного патогена.

**Цель исследований:** разработка праймерных систем и скрининг образцов озимой пшеницы для своевременной диагностики грибов рода *Sclerotinia* и предотвращения их распространения по территории Российской Федерации.

### Материал и методика исследований

Исследования проведены на базе центра коллективного пользования «Биотехнология» ФГБНУ ВНИИСБ. В работе использовали образцы ДНК *S. sclerotiorum*, *S. nivalis*, *S. borealis* и *S. Minor*, полученные от ООО «Сингента».

Тестирование разработанных наборов реагентов было проведено на растениях, отобранных с полей и имеющих естественно высокий инфекционный фон по визуальным наблюдениям предыдущих трех лет.

Образцы озимой пшеницы для диагностики *Sclerotinia borealis* были отобраны из следующих регионов: Алтайский край – 1 образец; Республика Татарстан – 6 образцов; Республика Башкортостан – 14 образцов; Нижегородская область – 2 образца; Ульяновская область – 9 образцов; Пензенская область – 4 образца.

Выделение нуклеиновых кислот проводили с использованием набора реагентов ФитоСорб-П. Для выделения ДНК были отобраны некротизированные участки листьев (фрагменты на границе живой и мертвой ткани). Все фрагменты листьев, отобранные с одного растения, объединялись в одну пробу. Число отобранных проб для анализа составляло 25–50 шт. (25–50 растений) и расценивалось как один образец. Зараженность образца определяли, исходя из количества зараженных растений к общему числу растений, отобранных для анализа.

Для проведения классической ПЦР и ПЦР в режиме реального времени использовали 10X ПЦР-Буфер-Б (ООО «Синтол», Россия), *SynTaq* ДНК-полимеразу с ингибирующими активностью фермента антителами (ООО «Синтол», Россия). Финальная концентрация компонентов реакционной смеси была следующей: 3 мМ  $MgCl_2$ ; 0,25 мМ dNTP; 2,5 ед. активности *SynTaq* ДНК-полимеразы. Объем реакционной смеси составлял 20 мкл. Синтез олигонуклеотидов и расходные материалы были предоставлены компанией ООО «Синтол».

Для повышения чувствительности и специфичности олигонуклеотидов учитывались следующие параметры: средняя температура отжига для прямого и обратного праймера составляла 60°C, для зонда – на 2–4°C выше; наличие на 3'-конце праймера G или C нуклеотида («GC-зажим»). В качестве флуоресцентного красителя использовали FAM, присоединенный к 5'-концу зонда, а в качестве гасителя флуоресценции – RTQ1, присоединенный к 3'-концу. Наличие/отсутствие вторичных структур (шпилек, димеров) проверяли с помощью онлайн-приложений Олиго Кальк: программа для расчета свойств олигонуклеотидов (праймеров) [12] и Multiple Primer Analyzer [9]. Для определения температуры отжига олигонуклеотидов использовали онлайн-приложение Promega Biomath Calculators (буфер 5X PCR Buffer с концентрацией  $MgCl_2$ , 3 мМ) [23]. В реакционной смеси использовали концентрацию праймеров 800 нМ и концентрацию зондов 400 нМ.

Программа амплификации для классической ПЦР состояла из следующих этапов: 95°C – 5 мин; 95°C – 15 сек.; 60°C – 10 сек.; 72°C – 40 сек. (35 циклов); 72°C – 5 мин. Определение молекулярной массы продуктов амплификации проводили с помощью горизонтального агарозного гель-электрофореза с визуализацией в ультрафиолетовом излучении (UV). Электрофорез проводили при следующих параметрах: 1,5% – агарозный гель, напряжение – 100V, время – 40 мин. Размер амплифицируемого фрагмента определяли относительно маркера молекулярного веса M-100 (ООО «Синтол», Россия) с диапазоном от 100 до 1000 пар оснований. Программа амплификации для ПЦР в режиме реального времени состояла из следующих этапов: 95°C – 5 мин; 95°C – 15 сек.; 60°C – 40 сек. (считывание сигнала флуоресценции), 50 циклов.

Очистку продуктов амплификации проводили набором ColGen (ООО «Синтол», Россия) согласно инструкции производителя.

Секвенирование последовательностей проводили на приборе Нанофор 05 («Институт аналитического приборостроения РАН», Россия). Анализ и обработку полученных результатов проводили с помощью программного обеспечения UGENE («УНИПРО», Россия) и AliView (Уппсальский университет, Швеция). Для создания множественного выравнивания использовали программу MAFFT v.7.503. Поиск последовательностей ДНК-мишеней осуществляли в базе данных NCBI GenBank [16].

## Результаты и их обсуждение

Подтверждение принадлежности образцов к изучаемым видам проводили с использованием метода секвенирования по Сэнгеру. Для этого, с опорой на последовательности из базы данных NCBI GenBank, была разработана пара праймеров: Scler\_Seq\_F (5'-TGCTGCTTCTGGTACGAAATC-3') и Scler\_Seq\_R (5'-ATACTTGTTC-CGGAAGCCTTG-3'), позволяющая проводить видовую идентификацию *S. sclerotiorum*, *S. minor*, *S. nivalis* по гену, кодирующему  $\beta$ -tubulin (tub). Ввиду отсутствия последовательностей данного гена в базе данных для вида *S. borealis* нами была сконструирована отдельная пара праймеров на фрагмент кластера генов rRNA: Scler.bor\_Seq\_F (5'-AATGCGATAAGTAATGTGAATTG-3') и Scler.bor\_Seq\_R (5'-TTA-AGTTCAGCGGGTATCC-3'). Ожидаемая длина продуктов амплификации составила 308 п.о. и 311 п.о. соответственно.

Было исследовано 24 образца, предположительно относящихся к роду *Sclerotinia*. Все образцы проанализированы с использованием праймеров Scler\_Seq и Scler.bor\_Seq в двукратной повторности.

Для проведения видовой идентификации использовали консервативные участки гена  $\beta$ -tubulin (tub) и фрагмент кластера rRNA, характерные для каждого вида. Основываясь на данных литературы, пришли к заключению о том, что гены tub и 18S rRNA обладают высокой вариабельностью. Это является важным для выявления генетического полиморфизма – как межвидового, так и внутривидового, поэтому их часто используют для уточнения таксономического положения представителей царства Грибы [28]. Положения селективных нуклеотидов и референсные последовательности NCBI GenBank указаны в таблице 1. В результате анализа данных секвенирования участков двух генов была установлена принадлежность: четырех образцов – к виду *S. Sclerotiorum*; двух образцов – к виду *S. Nivalis*; двух образцов – к виду *S. Minor*; 16 образцов – к виду *S. borealis*.

Таблица 1

### Положение селективных нуклеотидов и референсные последовательности

Номер референсной последовательности	Изучаемый вид	Таргетный ген	Нуклеотид/положение							
			T/111	C/126	A/157	C/185	T/207			
MK089776.1	<i>S. sclerotiorum</i>	$\beta$ -tubulin (tub)	T/111	C/126	A/157	C/185	T/207			
KT023311.1	<i>S. nivalis</i>	$\beta$ -tubulin (tub)	A/88	A/152	G/168	T/245	A/261	T/266	T/269	A/297
KY701261.1	<i>S. minor</i>	$\beta$ -tubulin (tub)	C/219	C/249	C/316	G/318	G/319	A/337	G/369	A/411
MK934592.1		rRNA	A/447	A/452	C/455					
AF067644.1	<i>S. borealis</i>	rRNA	C/371	C/373	T/438	A/447	C/449			

При анализе образцов *S. borealis* с использованием праймеров Scler\_Seq впервые были получены нуклеотидные последовательности гена  $\beta$ -tubulin (tub) для этого вида (рис. 1).

При множественном выравнивании участка гена  $\beta$ -tubulin (tub) выявлены отличия в нуклеотидных последовательностях *S. borealis*. В дальнейшем данный фрагмент гена tub можно использовать для видовой диагностики и идентификации всех видов склеротиний, изучаемых в данной работе.

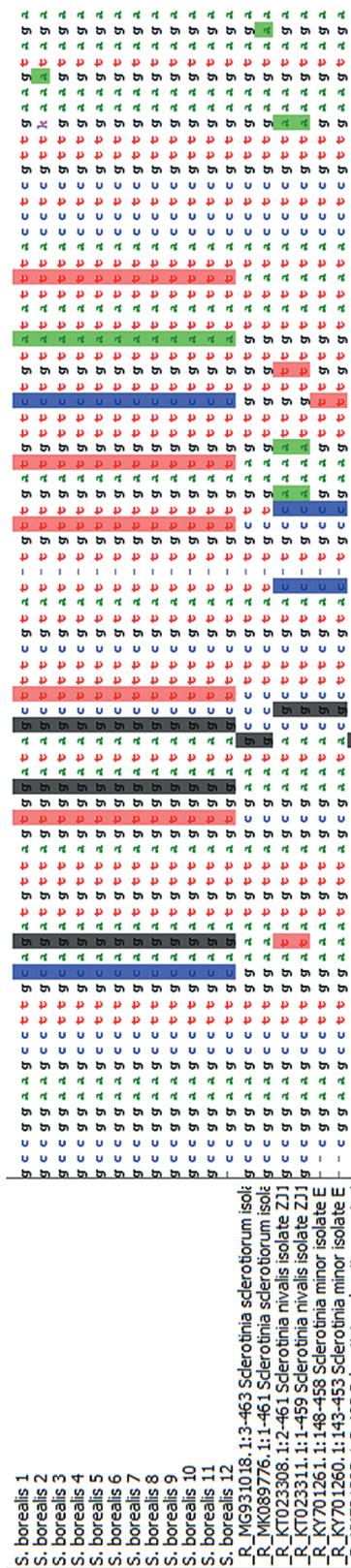


Рис. 1. Результаты множественного выравнивания полученных нуклеотидных последовательностей *S. borealis* в сравнении с последовательностями *S. sclerotiorum*, *S. nivalis* и *S. minor* из базы данных NCBI

Опираясь на полученные данные, разработали олигонуклеотиды для ПЦР в режиме реального времени, на фрагмент кластера rRNA для идентификации *S. borealis*.

Аналитическую чувствительность тестируемых олигонуклеотидов определяли путем проведения серии последовательных 10-кратных разведений ДНК образца *S. borealis* с исходной концентрацией 21,7 нг/мкл. Для более достоверного результата каждую реакцию проводили в двух повторениях. Стабильный и специфичный сигнал наблюдался при разведении образца до  $2,17 \times 10^{-3}$  нг/мкл, что соответствует 51 копии ДНК патогена. При разведении до  $2,17 \times 10^{-4}$  нг/мкл (5 копий ДНК патогена) реакция была нестабильной, а при разведении до  $2,17 \times 10^{-5}$  нг/мкл специфичная реакция полностью отсутствовала.

С использованием разработанных праймеров нами были исследованы 37 образцов озимой пшеницы из разных мест возделывания на наличие ДНК *S. borealis* методом ПЦР-РВ. Выделения нуклеиновых кислот образцов для анализа были проведены в 24- или 48-кратной повторности. Результаты анализа представлены в таблице 2. Большое количество повторов при исследовании образцов озимой пшеницы необходимо для выявления *S. borealis* в латентной фазе, чтобы предотвратить возможное дальнейшее распространение патогена, а также для определения уровня зараженности исследуемой территории.

Из 37 образцов, проанализированных в данной работе, только у 9 были обнаружены нуклеиновые кислоты *S. borealis*. Диапазон полученных пороговых циклов указывает на отсутствие сильно зараженных образцов. Такой результат характерен для единичных копий патогена. Эти результаты указывают на наличие изучаемого патогена в образцах в начальной стадии его развития: именно осенью происходит первичное инфицирование листьев патогена. Поскольку *S. borealis* может находиться в латентной фазе, необходимо будет проводить повторный отбор и диагностику в период активного роста патогена. Также для достоверных результатов мониторинга необходимо проводить отбор в разные сезонно-временные периоды.

В 2013 г. была опубликована статья по изучению *S. sclerotiorum* с использованием

метода секвенирования по Сэнгеру. В публикации изучались и сравнивались образцы из США и Китая по разным генам, в том числе по  $\beta$ -tubulin. Авторами были выявлены нуклеотидные замены, позволяющие отличать изоляты США от изолятов Китая. В наших исследованиях использовался участок, граничащий с участком, изучаемым в статье. В дальнейшем актуальным станет расширение изучаемого фрагмента гена для исследования распространения данного патогена [7].

Таблица 2

**Результаты анализа 37 образцов озимой пшеницы на наличие ДНК *S. borealis* по каналу флуоресценции FAM**

Образец	Зараженность, %	Пороговый цикл, ct	Образец	Зараженность, %	Пороговый цикл, ct
1	8,3	37–38	21	0	N/A
2	0	N/A	22	0	N/A
3	20,8	36–39	23	0	N/A
4	0	N/A	24	8,3	32–35
5	0	N/A	25	0	N/A
6	4,17	37–38	26	0	N/A
7	0	N/A	27	0	N/A
8	0	N/A	28	0	N/A
9	4,17	35,74	29	0	N/A
10	0	N/A	30	0	N/A
11	0	N/A	31	0	N/A
12	0	N/A	32	8,3	37–38
13	0	N/A	33	0	N/A
14	0	N/A	34	8,3	36–37
15	0	N/A	35	0	N/A
16	0	N/A	36	0	N/A
17	0	N/A	37	4,17	38
18	0	N/A			
19	0	N/A			
20	4,17	33			

**Примечание.** N/A – не выявлено; Ct – значение порогового цикла ПЦР-РВ, отражающее количество копий ПЦР-мишени в исходном образце.

## Выводы

Нами была подтверждена принадлежность 24 образцов грибов к роду *Sclerotinia*. С помощью разработанных праймеров *Scler\_Seq* и *Scler.bor\_Seq* были получены нуклеотидные последовательности фрагментов генов  $\beta$ -tubulin (*tub*) и фрагмент кластера rRNA, последующее выравнивание которых позволило определить селективные нуклеотиды и провести видовую идентификацию изучаемых грибов. Впервые были получены последовательности гена  $\beta$ -tubulin для *S. borealis*. Новые данные позволяют разработать высокоспецифичную и чувствительную систему видовой диагностики.

На основе полученных данных были разработаны олигонуклеотиды для идентификации *S. borealis* на фрагмент кластера rRNA методом ПЦР в режиме реального времени. Проведя анализ 37 образцов озимой пшеницы, обнаружили единичные копии исследуемого патогена, что может свидетельствовать о нахождении возбудителя в латентной фазе. Для достоверного результата необходимо повторить исследование, используя большее количество образцов озимой пшеницы, отобранных в разные вегетационные периоды.

Дальнейшая разработка олигонуклеотидов для видовой диагностики методом ПЦР-РВ позволит проводить скрининговые исследования злаковых культур. Результаты проведенной работы могут помочь исследовательским центрам и институтам в своевременном проведении диагностических исследований для предотвращения потерь урожая злаковых культур и распространения склеротиний по территории РФ.

## Библиографический список

1. *Abawi G.S., Grogan R.G.* Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology*. 1979; 69:899–903.
2. *Abd-Elmagid A., Garrido P., Hunger R. et al.* Discriminatory simplex and multiplex PCR for four species of the genus *Sclerotinia* // *Journal of Microbiological Methods*. 2013; 92 (3):293–300.
3. *Agrios G.N.* *Sclerotinia* diseases. *Plant pathology*. 2005; 5:546–550.
4. *Almqvist C., Wallenhammar A. – C.* Monitoring of plant and airborne inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* in spring oilseed rape using real-time PCR. *Plant pathology*. 2014; 64 (1):109–118.
5. *Amsalem J., Cuomo C., Van Kan J. et al.* Genomic Analysis of the Necrotrophic Fungal Pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea* // *PLOS Genetics*. 2011; 7 (8): e1002230.
6. *Andrade C., Tinoco M., Rieth A. et al.* Host-induced gene silencing in the necrotrophic fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* // *Plant pathology*. 2015; 65 (4):626–632.
7. *Attanayake R., Carter P., Jiang D. et al.* *Sclerotinia sclerotiorum* Populations Infecting Canola from China and the United States Are Genetically and Phenotypically Distinct. *Phytopathology*. 2013; 103 (7):750–761.
8. *Badet T., Peyraud R., Raffaele S.* Common protein sequence signatures associate with *Sclerotinia borealis* lifestyle and secretion in fungal pathogens of the Sclerotiniaceae. *Frontiers in Plant Science*. 2015; 6.
9. *Breslauer K., Frank R., Blöcker H., Marky L.* Predicting DNA duplex stability from the base sequence // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1986; 83 (11):3746–3750.
10. *Grau C.R., Hartman G.L.* *Sclerotinia* stem rot. *Compendium of soybean diseases*, 1999; 4:46–48.
11. *Heffer L.V., Johnson K.B.* *White Mold. The Plant Health Instructor*, 2007.
12. *Kibbe W.A.* «OligoCalc: an online oligonucleotide properties calculator» // *Nucleic Acids Research*. 2007; 35 (webservice issue).

13. Li G., Wang D., Jiang D. et al. First report of *Sclerotinia nivalis* on lettuce in central China // *Mycological Research*. 2000; 104 (2):232–237.
14. Mardanov A., Beletsky A., Kadnikov V., Ignatov A., Ravin N. Draft Genome Sequence of *Sclerotinia borealis*, a Psychrophilic Plant Pathogenic Fungus. *Genome Announcement*. 2014; 2 (1).
15. Melzer M.S., Smith E.A., Boland G.J. Index of plant host of *Sclerotinia minor* // *Canadian Journal of Plant Pathology*. 1997; 19:272–280.
16. National Center for Biotechnology Information (NCBI) // Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/1988> (дата обращения: 06.03.2022).
17. O'Sullivan C., Belt K., Thatcher L. Tackling control of a cosmopolitan phytopathogen: *Sclerotinia* // *Frontiers in Plant Science*. 2021; 12:707509.
18. Peltier A., Bradley C., Chilvers M. et al. Biology, Yield loss and Control of *Sclerotinia* Stem Rot of Soybean // *Journal of Integrated Pest Management*. 2012; 3 (2):1–7.
19. Purdy L. *Sclerotinia sclerotiorum*: History, Diseases and Symptomatology, Host Range, Geographic Distribution, and Impact // *Phytopathology*. 1979; 69 (8):875.
20. Saharan G.S., Mehta N. Ultrastructures. *Sclerotinia Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management*, 2008: 163–199.
21. Saharan G.S., Mehta N. Disease Forecasting. *Sclerotinia Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management*. 2008; 279–283.
22. Smolińska U., Kowalska B. Biological control of the soil-borne fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* – a review // *Journal of Plant Pathology*. 2018; 100 (1):1–12.
23. Universal Protein Resource (UniProt). URL: <https://www.uniprot.org/> (дата обращения: 23.11.2021).
24. Wang C., Shang W. et al. White rot of *Panax quinquefolius* caused by *Sclerotinia nivalis* // *Plant pathology*. 2021; 70 (9):2034–2045.
25. Willetts H., Wong J. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum* and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature // *The Botanical Review*. 1980; 46 (2):101–165.
26. Wu B., Subbarao K., Qin Q. Nonlinear colony extension of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum* // *Mycologia*. 2008; 100 (6):902–910.
27. Young C.S., Werner C.P. Infection routes for *Sclerotinia sclerotiorum* in apetalous and fully petalled winter oilseed rape // *Plant Pathology*. 2012; 61:730–738.
28. Zhao Z., Liu H., Luo Y. et al. Molecular evolution and functional divergence of tubulin superfamily in the fungal tree of life // *Scientific Reports*. 2014; 4 (1).

## OPTIMISATION OF MOLECULAR-GENETIC METHODS FOR DIAGNOSING FUNGI OF GENUS *SCLEROTINIA*

S.A. BLINOVA<sup>1,2</sup>, M.L. KONY SHEVA<sup>2</sup>, A.A. SHVARTSEV<sup>2,3</sup>,  
A.A. SOLOV'EV<sup>1</sup>, YA.I. ALEKSEEV<sup>2</sup>, E.S. MAZURIN<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology,

<sup>2</sup>LLC “Syntol”,

<sup>3</sup>Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy,

<sup>4</sup>LLC “Syngenta”)

*Phytopathogenic fungi are the causative agent for disruptive crop plant diseases, besides causing significant losses in crop yield annually. Sclerotinia is one of the most common and dangerous pathogens. Species of the Sclerotinia genus cause widespread disease across a broad range*

of economically important agricultural crops. Regular screening of *Sclerotinia* in plant material is necessary due to wide host-plants range and absence of resistance to this phytopathogen. The purpose of this study was to test the developed systems of primers and probes to identify the most dangerous species of *Sclerotinia* genus, such as *S. sclerotiorum*, *S. nivalis*, *S. borealis* and *S. minor*. This system has been tested on positive samples of fungal cultures. Screening study and determination of the infection level with *S. borealis* were carried out on winter wheat. The material for the study was 24 samples of fungi belonging to the genus *Sclerotinia* obtained from Syngenta LLC and 37 winter wheat samples from different places of growth. Species identification of fungal cultures was carried out by Sanger sequencing using the developed pairs of primers for the  $\beta$ -tubulin (*tub*) gene region and a fragment of the rRNA gene cluster. Additionally, oligonucleotides were designed for the identification of *S. borealis* by real-time polymerase chain reaction (qPCR). In determining the analytical characteristics of the kit, the absence of false positive and false negative results was demonstrated. Screening studies of 37 winter wheat samples showed the presence of nucleic acids of the studied pathogen in 24.3% among the analyzed samples. There were no severely infected samples among the tested, which indicates that the pathogen is in the initial stage of its development.

**Key words:** *Sclerotinia*, fungi, PCR, reagent kit, winter wheat, infection, diagnostics.

## References

1. Abawi G.S., Grogan R.G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology*. 1979; 69: 899–903.
2. Abd-Elmagid A., Garrido P., Hunger R., et al. Discriminatory simplex and multiplex PCR for four species of the genus *Sclerotinia*. *Journal of Microbiological Methods*. 2013; 92(3): 293–300.
3. Agrios G.N. *Sclerotinia* diseases. *Plant pathology*. 2005; 5: 546–550.
4. Almquist C., Wallenhammar A. – C. Monitoring of plant and airborne inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* in spring oilseed rape using real-time PCR. *Plant Pathology*. 2014; 64 (1): 109–118.
5. Amselem J., Cuomo C., Van Kan J. et al. Genomic Analysis of the Necrotrophic Fungal Pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. *PLOS Genetics*. 2011; 7 (8): e1002230.
6. Andrade C., Tinoco M., Rieth A. et al. Host-induced gene silencing in the necrotrophic fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Pathology*. 2015; 65 (4): 626–632.
7. Attanayake R., Carter P., Jiang D., et al. *Sclerotinia sclerotiorum* Populations Infecting Canola from China and the United States Are Genetically and Phenotypically Distinct. *Phytopathology*. 2013; 103 (7): 750–761.
8. Badet T., Peyraud R., Raffaele S. Common protein sequence signatures associate with *Sclerotinia borealis* lifestyle and secretion in fungal pathogens of the Sclerotiniaceae. *Frontiers in Plant Science*. 2015; 6.
9. Breslauer K., Frank R., Blöcker H., Marky L. Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1986; 83 (11): 3746–3750.
10. Grau C.R., Hartman G.L. *Sclerotinia* stem rot. *Compendium of soybean diseases*. 1999; 4: 46–48.
11. Heffer L. *White Mold*. The Plant Health Instructor. 2007.
12. Kibbe W.A. “OligoCalc: an online oligonucleotide properties calculator”. *Nucleic Acids Research*. 2007; 35 (webservice issue).
13. Li G., Wang D., Jiang D., et al. First report of *Sclerotinia nivalis* on lettuce in central China. *Mycological Research*. 2000; 104 (2):232–237.
14. Mardanov A., Beletsky A., Kadnikov V., Ignatov A., Ravin N. Draft Genome Sequence of *Sclerotinia borealis*, a Psychrophilic Plant Pathogenic Fungus. *Genome Announcement*. 2014; 2 (1).

15. Melzer M.S., Smith E.A., Boland G.J. Index of plant host of *Sclerotinia minor*. Canadian Journal of Plant Pathology. 1997; 19: 272–280.
16. National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Electronic source]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 1988. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (Access date: 06.03.2022).
17. O'Sullivan C., Belt K., Thatcher L. Tackling control of a cosmopolitan phytopathogen: *Sclerotinia*. Frontiers in Plant Science. 2021; 12: 707509.
18. Peltier A., Bradley C., Chilvers M., et al. Biology, Yield loss and Control of *Sclerotinia* Stem Rot of Soybean. Journal of Integrated Pest Management. 2012; 3 (2): 1–7.
19. Purdy L. *Sclerotinia sclerotiorum*: History, Diseases and Symptomatology, Host Range, Geographic Distribution, and Impact. Phytopathology. 1979; 69 (8): 875.
20. Saharan G.S., Mehta N. Ultrastructures. *Sclerotinia* Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management. 2008: 163–199.
21. Saharan G.S., Mehta N. Disease Forecasting. *Sclerotinia* Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management. 2008: 279–283.
22. Smolińska U., Kowalska B. Biological control of the soil-borne fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* – a review. Journal of Plant Pathology. 2018; 100 (1): 1–12.
23. Universal Protein Resource (UniProt). URL: <https://www.uniprot.org/> (Access date: 23.11.2021).
24. Wang C., Shang W., et al. White rot of *Panax quinquefolius* caused by *Sclerotinia nivalis*. Plant Pathology. 2021; 70 (9): 2034–2045.
25. Willetts H., Wong J. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. The Botanical Review. 1980; 46 (2): 101–165.
26. Wu B., Subbarao K., Qin Q. Nonlinear colony extension of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum*. Mycologia. 2008; 100 (6): 902–910.
27. Young C.S., Werner C.P. Infection routes for *Sclerotinia sclerotiorum* in apetalous and fully petalled winter oilseed rape. Plant Pathology. 2012; 61: 730–738.
28. Zhao Z., Liu H., Luo Y., et al. Molecular evolution and functional divergence of tubulin superfamily in the fungal tree of life. Scientific Reports. 2014; 4 (1).

**Блинова София Алексеевна**, младший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», научный сотрудник, ООО «Синтол»; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевская ул., 42; e-mail: sofya.blinova@yandex.ru; тел.: (915) 125–87–13

**Коньшева Мария Леонидовна**, научный сотрудник, ООО «Синтол»; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевская ул., 42; e-mail: mariakorolewa@inbox.ru; тел.: (920) 627–04–90

**Шварцев Алексей Анатольевич**, научный сотрудник, ООО «Синтол», аспирант, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевская ул., 42; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевская ул., 49; e-mail: alexey.sva@yandex.ru; тел.: (925) 161–15–63

**Соловьев Александр Александрович**, д-р биол. наук, профессор РАН, заведующий лабораторией маркерной и геномной селекции растений «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии»; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевская ул., 42; e-mail: a.soloviev70@gmail.com; тел.: (926) 164–16–30

**Алексеев Яков Игоревич**, канд. биол. наук, директор по науке ООО «Синтол»; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевская ул., 42; e-mail: jalex2071@gmail.com; тел.: (916) 628–00–31

**Мазурин Евгений Сергеевич**, канд. биол. наук, руководитель лабораторий тех. поддержки ООО «Сингента»; 115114, Российская Федерация, г. Москва, Летниковская ул., 2; e-mail: zarah@mail.ru; тел.: (495) 933–77–55

**Sofiya A. Blinova**, Junior Research Associate, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology, Research Associate of LLC “Syntol” (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (915) 125–87–13); E-mail: sofya.blinova@yandex.ru)

**Mariya L. Konysheva**, Research Associate of of LLC “Syntol” (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (920) 627–04–90); E-mail: mariakorolewa@inbox.ru)

**Aleksey A. Shvartsev**, Research Associate of LLC “Syntol”, post-graduate student, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (925) 161–15–63; E-mail: alexey.sva@yandex.ru)

**Aleksandr A. Solov’ev**, DSc (Bio), RAS Professor, Head of the Laboratory of Marker and Genomic Plant Selection, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (926) 164–16–30); E-mail: a.soloviev70@gmail.com)

**Yakov I. Alekseev**, PhD (Bio), Scientific Director, LLC “Syntol” (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (916) 628–00–31); E-mail: jalex2071@gmail.com)

**Evgeniy S. Mazurin**, PhD (Bio), Head of Technical Support Laboratories, LLC “Syngenta” (2 Letnikovskaya Str., Moscow, 115114, Russian Federation; phone: (495) 933–77–55); E-mail: zarah@mail.ru)

## ФАКТОРЫ ПРЯМОГО ПРОРАСТАНИЯ МИКРОСПОРОГЕННЫХ ЭМБРИОИДОВ *BRASSICA NAPUS* L.

А.В. ВИШНЯКОВА, А.А. АЛЕКСАНДРОВА, С.Г. МОНАХОС

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева)

*Культура изолированных микроспор – основной метод производства удвоенных гаплоидов рапса, широко используемый в научно-исследовательских учреждениях и коммерческих компаниях. Протокол производства эмбриоидов рапса хорошо разработан и эффективен для многих генотипов, при этом сохраняются сложности, выражающиеся в низкой частоте регенерации проростков из эмбриоидов. При применении стандартного протокола регенерация проростков из микроспорогенных эмбриоидов, как правило, включает стадию каллусообразования и последующей регенерации адвентивных побегов, или вторичных эмбриоидов, что увеличивает срок производства растений-регенерантов и затрудняет производство удвоенных гаплоидов. Выявление факторов, влияющих на частоту прямого прорастания эмбриоидов, позволит увеличить частоту формирования проростков и сократить срок производства растений-регенерантов. При проведении исследований было изучено влияние кислотности среды на продолжительность регенерации проростков при культивировании микроспорогенных эмбриоидов рапса, а также влияние воздействия на микроспорогенные эмбриоиды в семядольной стадии развития пониженных температур +1 и +5°C в течение 3, 6, 8, 9, 12 дней при культивировании в темноте на частоту прямого прорастания эмбриоидов. Повышение pH питательной среды с 5,8 до 6,1 увеличило частоту прямого прорастания эмбриоидов на 18% и общую частоту регенерации проростков с 46 до 76%. Культивирование эмбриоидов при низких положительных температурах повлияло на частоту прямого прорастания эмбриоидов в сеянцы: наблюдали максимальную частоту прямого прорастания эмбриоидов 44–53% при культивировании при +1°C в течение 6 и 9 дней. При культивировании эмбриоидов при +5°C частота прямого прорастания составляла 0–10%, в контрольном варианте без холодной обработки – 16%.*

**Ключевые слова:** культура изолированных микроспор, яровой рапс, частота регенерации, холодовая обработка, эмбриоид, *Brassica napus*.

### Введение

ДН-технологии широко используются в частных селекционных фирмах и в академических исследованиях для ускоренного производства гомозиготных растений [8, 15]. Наиболее эффективным технологическим подходом для производства удвоенных гаплоидов рапса является культивирование изолированных микроспор. Вклад многих исследовательских групп за последние десятилетия позволил разработать эффективный протокол получения эмбриоидов *Brassica napus* L., работающий на многих генотипах [4, 24]. При этом частота формирования растений-регенерантов из эмбриоидов у *Brassica napus* L. в среднем является невысокой и варьирует от 0 до 65% [6, 13, 17, 27]. Кроме того, остаются сложности с получением растений-регенерантов в короткие сроки, в основе чего лежит низкая частота прямого прорастанием эмбриоидов [19].

Некоторые авторы [16, 22, 23] считают, что благодаря оптимизации этапа регенерации эмбриоидов можно существенно улучшить методику культуры микроспор, так как во многих исследованиях скорость регенерации является низкой, и большая часть потенциальных регенерантов погибает. Прямое прорастание эмбриоидов в сеянцы является желательным при использовании удвоенных гаплоидов в селекции:

отсутствие промежуточного этапа каллусообразования позволяет синхронизировать развитие растений, сохранить генотипическую стабильность [2, 18], а также получить цветущие растения, осуществить размножение и гибридизацию в тот же год.

На скорость и частоту регенерации эмбриоидов влияют морфологическая зрелость эмбриоидов, состав питательной среды и условия культивирования. Ряд исследований [3, 11, 18] посвящен модификации условий культивирования микроспор и эмбриоидов для повышения частоты нормального развития эмбриоидов. Другие исследователи концентрировались на модификации состава питательной среды и условий культивирования уже после пересадки эмбриоидов на агаризованную питательную среду: ряд их работ свидетельствует о положительном влиянии культивирования эмбриоидов культур рода *Brassica* в течение 3–28 дней при температуре 1–10°C [5, 6, 12, 21, 26]. Другие авторы модифицировали состав питательной среды: снижали концентрацию питательных веществ [10], добавляли регуляторы роста [1].

Наши исследования посвящены изучению влияния кислотности питательной среды на продолжительность и частоту формирования растений из микроспорогенных эмбриоидов *Brassica napus* L., а также изучению возможности стимулировать прямое прорастание эмбриоидов при воздействии на них низкими положительными температурами.

### Материал и методика исследований

*Растения-доноры и условия выращивания.* Для изоляции микроспор использовали генотип ярового рапса F1 Джаз, растения которого были выращены в условиях защищенного грунта в 2021–2022 гг.

*Изоляция и культивирование микроспор.* Перед изоляцией микроспор определяли соответствие длины бутона и поздней одноядерной стадии развития микроспор, в качестве красителя использовали 4',6-диамидино-2-фенилиндол (DAPI) в концентрации 1,75 мкг/мл. Препараты изучали на флюоресцентном микроскопе Axio Lab A1 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Germany) [25].

Изоляцию микроспор проводили по Custers et al. (2003) с модификациями С.Г. Монахос [7, 25]. Для изоляции микроспор с помощью электронного штангенциркуля отбирали бутоны размером 2,8 мм. Стерилизацию бутонов проводили в 2%-ном растворе гипохлорита натрия в течение 10 мин. Изоляцию микроспор проводили в охлажденной безгормональной питательной среде В5 с добавлением с добавлением 13% сахарозы и 5% маннитола [9]. Суспензию микроспор осаждали на центрифуге Centrifuge 5702R (Eppendorf, Hamburg, Germany) в течение 4 мин при температуре 4°C и 800 об/мин. Концентрацию микроспор определяли с помощью камеры Фукса-Розенталя и доводили до  $4 \times 10^4$  микроспор/мл.

После изоляции микроспоры культивировали в безгормональной жидкой питательной среде NLN-13 с добавлением 130 г/л сахарозы, pH 5,8 [14], в течение двух суток в темноте при температуре 33°C, после чего переносили в климатическую комнату и культивировали при температуре +22°C в темноте. После появления первых эмбриоидов в торпедовидной стадии развития чашки Петри переносили на лабораторный шейкер Excella E-24 (New Brunswick Scientific, Edison, New Jersey, USA) и культивировали при естественном освещении при 70 об/мин и температуре  $+24 \pm 2^\circ\text{C}$  до семядольной стадии. Частота эмбриогенеза F1 Джаз составила 1876 эмбриоидов на 100 бутонов.

*Регенерация/проращивание эмбриоидов.* Эмбриоиды в семядольной стадии развития пересаживали в полипропиленовые автоклавируемые контейнеры размером (8 × 6 × 4,5 см), заполненные на 0,5–0,6 см средой В5 [9], содержащей 2,5% сахарозы, 1,1% агар-агара (Sigma-Aldrich, USA), pH среды перед стерилизацией автоклавированием доводили до 5,8. Плотность размещения эмбриоидов составляла 9–12 шт. на один контейнер. Эмбриоиды культивировали в климатической комнате при 22°C и фотопериоде:

16 ч – день; 8 ч – ночь. Один раз в 30 дней при отсутствии развитых растений производили пересадку развивающихся эмбриоидов на свежую питательную среду того же состава. При образовании из эмбриоида проростка с нормально развитыми листьями и корневой системой их пересаживали в кассеты с торфяным субстратом для укоренения и адаптации.

Для изучения влияния кислотности питательной среды В5, содержащей 2,5% сахарозы и 1,1% агар-агара, на продолжительность регенерации проростков из эмбриоидов рапса кислотность среды перед автоклавированием доводили до рН 5,8; 6,1; 6,4. Эмбриоиды, достигшие семядольной стадии, пересаживали в контейнеры с питательной по 12 шт. в каждый. Опыт был заложен в 6-кратной повторности для каждого варианта. Контролем в эксперименте была питательная среда В5 с рН 5,8.

Изучение влияние низких положительных температур на частоту прямого прорастания эмбриоидов проводили при температуре +1°C и +5°C в течение 3, 6, 9, 12 дней после пересадки эмбриоидов на твердую безгормональную питательную среду В5 с добавлением 2,5% сахарозы и 1,1% агар-агара, рН 5,8. После холодной обработки контейнеры с эмбриоидами переносили в климатическую камеру и инкубировали до формирования семян при температуре 22°C и фотопериоде: 16 ч – день; 8 ч – ночь. Опыт заложен в 3–14-кратной повторности по 9 эмбриоидов в контейнере. Контроль сразу после пересадки эмбриоидов на твердую питательную среду переносили в климатическую комнату, культивировали при 22°C и фотопериоде: 16 ч – день; 8 ч – ночь.

Частоту прямого прорастания оценивали на 30 день культивирования как отношение числа эмбриоидов с прямым прорастанием к общему числу эмбриоидов на среде. Частоту формирования проростков определяли как отношение числа полученных растений-регенерантов в определенный период к общему числу пересаженных эмбриоидов. Существенность различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа на уровне значимости 0,05 с использованием критерия Фишера.

## Результаты и их обсуждение

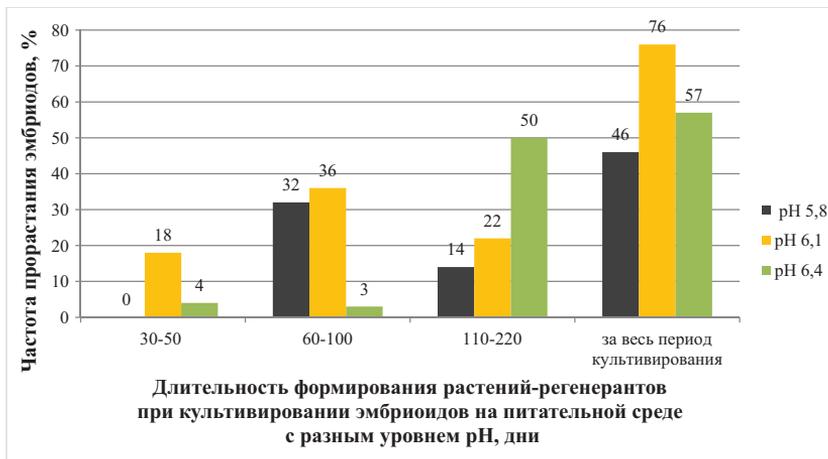
*Изучение влияния кислотности питательной среды на частоту регенерации эмбриогенных проростков и продолжительность формирования растений-регенерантов.* При изучении влияния кислотности питательной среды на частоту формирования проростков фиксировали динамику формирования растений-регенерантов из эмбриоидов. Неразвившиеся в проростки эмбриоиды пересаживали на питательную среду с той же кислотностью. Всего было произведено около 7 пассажей, длительность регенерации растений из отдельных эмбриоидов варьировала от 30 до 220 дней (рис. 1).

В эксперименте выделено три периода формирования растений-регенерантов: с 30 по 50 дни культивирования растения-регенеранты формируются из эмбриоидов, как правило, прямым прорастанием; с 60 до 100 дни растения-регенеранты формируются за счет развития адвентивных побегов, которые при пересадке легко укореняются; с 110 по 220 дни формирование растений происходит при разрастании эмбриоидов, формировании каллуса и последующей непрямой регенерации побегов.

Развитие эмбриоидов в растения-регенеранты в контрольном варианте культивирования на питательной среде с рН 5,8 происходило с задержкой: первые растения-регенеранты были получены на 60 день культивирования, после одного пассажа. В период с 60 по 100 дни культивирования получена основная масса растений. Частота регенерации в этот период составила 32% при общей частоте регенерации для данного варианта эксперимента 46%.

При культивировании эмбриоидов на питательной среде с рН 6,1 первые растения были получены уже на 30 день культивирования эмбриоидов, а к 50 дню культивирования были пересажены в грунт 18%. Наибольшая частота регенерации была

в период 60–100 дней от начала культивирования и составляла 36% от посаженных на питательную среду эмбриоидов. Всего к 100 дню проростки образовались у более чем 50% эмбриоидов. Общая частота регенерации при культивировании эмбриоидов на питательной среде с рН 6,1 составила 76%, что на 30% выше контрольного варианта.



**Рис. 1.** Динамика частоты формирования растений-регенерантов при культивировании эмбриоидов на регенерационной среде с рН 5,8; 6,1; 6,4

Культивирование эмбриоидов на питательной среде с рН 6,4 сдерживало развитие проростков из эмбриоидов. Несмотря на то, что первые растения были сформированы к 30 дню культивирования, большая часть растений-регенерантов (50% при общей частоте регенерации 57%) была получена в период с 100 по 220 дни.

*Изучение влияния воздействия низкими положительными температурами на частоту прямого прорастания эмбриоидов.* С целью стимуляции прямого прорастания эмбриоидов и сокращения сроков подготовки растений-регенерантов к пересадке в грунт было изучено воздействие низких положительных температур на частоту прямого прорастания эмбриоидов. Для этого эмбриоиды в семядольной стадии развития пересаживали на среду, агаризованную 11 г/л агар-агара, с добавлением 25 г/л сахарозы, рН 5,8, и культивировали в холодильной камере при +1 и +5°C в течение 3, 6, 9 и 12 дней. После холодной обработки при проращивании эмбриоидов на 30 день культивирования оценивали количество готовых к пересадке в грунт растений и сравнивали с контролем (без холодной обработки) (табл. 1).

Частота прямого прорастания эмбриоидов зависела от температурного режима и длительности его воздействия на эмбриоиды: показано, что культивирование при температурах +1 и +5°C в течение более 10 дней приводит к задержке формирования растений из эмбриоидов. Культивирование эмбриоидов при более низкой температуре (+1°C) показало положительный эффект в отношении прямого прорастания эмбриоидов по сравнению с культивированием эмбриоидов при +22 и +5°C после пересадки на агаризованную питательную среду (рис. 2).

В контрольном варианте, без воздействия низкими положительными температурами, частота прямого прорастания эмбриоидов составила 16%. Это несущественно выше частоты прямого прорастания при трехдневном культивировании эмбриоидов при температуре +1 и +5°C. При культивировании эмбриоидов при +1°C в течение 6 и 9 дней частота прямого прорастания была существенно выше по сравнению с контрольным вариантом и составила 44 и 53% соответственно. При культивировании в течение 6 и 9 дней при температуре +5°C прямого прорастания эмбриоидов не наблюдали.

**Влияние воздействия пониженными температурами +1 и +5°C  
различной продолжительности на частоту прямого прорастания  
эмбрионов ярового рапса**

T, °C	Длительность культивирования эмбрионов при пониженных температурах, дн	Общее число эмбрионов, пересаженных на регенерационную среду, шт.	Количество растений-регенерантов, полученных к 30 дню культивирования, шт.	Частота прямого прорастания эмбрионов*, %
+1	3	36	3	8 ab
	6	36	16	44 c
	9	45	24	53 c
	12	27	5	19 a
+5	6	72	7	10 ab
	9	72	0	– b
	12	72	0	– b
Без обработки (контроль)	-	126	20	16 a

**Примечание.** Значения в столбце, отмеченные одинаковыми строчными буквами (a, b, c), согласно t-критерию Стьюдента не имеют существенного различия на 5%-ном уровне значимости ( $P \leq 0.05$ ).

Кислотность питательной среды влияет на скорость протекания биохимических реакций, усвоение питательных веществ клетками экспланта, степень токсичности ингибиторов роста, плотности геля и на другие свойства питательной среды. Исследования Yuan et al. [20] показали, что повышение уровня pH эмбриоиндукционной питательной среды NLN-13 увеличивало частоту эмбриогенеза у различных генотипов капусты белокочанной. Наши исследования демонстрируют влияние pH питательной среды на продолжительность формирования проростков из эмбрионов, а также на общую частоту их регенерации. Увеличение уровня pH среды до 6,1 перед автоклавированием оказало положительное влияние на регенерацию проростков



**Рис. 2.** Развитие растений-регенерантов на 30 день культивирования на питательной среде: А – типичный проросток в контрольном варианте при культивировании эмбрионов при +22°C; Б – растение-регенерант, образовавшееся в результате прямого прорастания эмбриода, при воздействии на эмбриоды низкой положительной температурой +1°C в течение 6 дней

из эмбриоидов по сравнению с культивированием их в контрольных условиях при рН 5,8. Дальнейшее увеличение рН до 6,4 приводило преимущественно к непрямому пути образования проростков и увеличению продолжительности формирования растений. Для изучения данного феномена с помощью цифрового пенетрометра МЕГЕОН 03004 (МЕГЕОН, Москва, Россия) была измерена сила упругости, остывшей до комнатной температуры, затвердевшей питательной среды. Показана существенная разница (НСР = 32 г/см<sup>2</sup>) между вариантами с разным значением рН: для среды с рН 5,8 она составила 285 г/см<sup>2</sup>, при рН 6,1–321 г/см<sup>2</sup>, при рН 6,4–233 г/см<sup>2</sup>.

Таким образом, показано, что рН питательной среды влияет на физические свойства агаризованной питательной среды, что в свою очередь оказывает влияние на развитие эмбриоидов в растения.

Положительное влияние кратковременного воздействия низкой положительной температуры на частоту регенерации эмбриоидов культур рода *Brassica* отмечают многие исследователи [5, 12, 21, 26]. Так, исследование влияния культивирования эмбриоидов рапса при +4°C в течение 3, 5 и 7 дней проводили G.Q. Zhang et al. [21], наблюдая существенное увеличение частоты регенерации практически у всех изученных генотипов при культивировании эмбриоидов при +4°C в течение 3 и 5 дней. Увеличение частоты регенерации проростков после инкубирования эмбриоидов при низких положительных температурах исследователи связывают с дегидратацией клеток эмбриоидов, что является ключевым этапом в формировании эмбриоидов.

В наших исследованиях показано, что снижение температуры культивирования эмбриоидов до +1°C в первые 6–9 дней после пересадки на агаризованную среду существенно увеличивает частоту прямого прорастания по сравнению с культивированием при 22°C и 5°C. Продолжительность воздействия холодом также повлияла на частоту прямого прорастания: при культивировании в течение 12 дней при температурах +1 и +5°C частота прямого прорастания снижалась. Культивирование в течение 3 дней при +1°C и 6 дней при +5°C не было достаточным для стимуляции прямого прорастания эмбриоидов ярового рапса, и частота прямого прорастания не отличалась от контрольного варианта с культивированием эмбриоидов при 22°C.

Таким образом, оптимальным можно считать культивирование эмбриоидов при +1°C в течение 6–9 дней.

## Выводы

Результаты исследований выявили существенное влияние на частоту регенерации/прорастания эмбриоидов рапса (*Brassica napus* L.) кислотности питательной среды в трех вариантах рН 5,8; 6,1; 6,4 и воздействия на эмбриоиды низкими положительными температурами +1 и +5°C в течение 3, 6, 9 и 12 дней на частоту их прямого прорастания.

При сравнении частоты регенерации/прорастания эмбриоидов на питательной среде с различным значением рН было установлено, что частота регенерации проростков F1 Джаз была на 30% выше при культивировании на питательной среде с рН 6,1 по сравнению с рН 5,8. Культивирование эмбриоидов на питательной среде с рН 6,4 приводило к непрямой регенерации побегов и растянутому периоду формирования растений-регенерантов.

Для стимуляции прямого прорастания эмбриоидов рапса оптимальным условием было культивирование в течение 6–9 дней при температуре +1°C с продолжением культивирования при +22°C с фотопериодом: 16 ч – день; 8 ч – ночь. Частота прямого прорастания при таком варианте культивирования была примерно в 3 раза выше, чем в контрольном варианте. Культивирование в течение 3 дней при температуре +1°C и 6 дней при +5°C не имело существенного эффекта в отношении частоты

прямого прорастания эмбриоидов по сравнению с контрольным вариантом. Культивирование эмбриоидов в течение 12 дней при пониженных температурах, а также культивирование в течение 6 и 9 дней при +5°C увеличивали срок формирования растений-регенерантов и снижали частоту прямого прорастания эмбриоидов.

*Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075–15–2022–745 от 13 мая 2022 г., заключенного по гранту МК-3440.2022.5.*

### Библиографический список

1. *Ahmadi B., Ghadimzadeh A.F., Moghaddam K.* Alizadeh Embryogenesis and plant regeneration from isolated microspores of *Brassica napus* L. under different incubation time M. // *J. Food Agric. Environ.* – 2011. – Т. 9. – С. 434–437.
2. *Babbar S., Agarwal P.* Isolated microspore culture of Brassica: an experimental tool for developmental studies and crop improvement // *Indian J.* – 2004. – № 3. – P. 185–202.
3. *Belmonte M.F., Ambrose S.J., Ross A.R.S., Abrams S.R., Stasolla C.* Improved development of microspore derived embryo cultures of *Brassica napus* cv Topaz following changes in glutathione metabolism // *Physiologia Plantarum.* – 2006. – № 127. – P. 690–700.
4. *Corral-Martínez P.* Doubled haploid production in high- and low-response genotypes of rapeseed (*Brassica napus*) through isolated microspore culture / P. Corral-Martínez C., Camacho-Fernández R., Mir J.M. Seguí-Simarro // *Doubled haploid technology.* – Humana: New York, NY, 2021. – С. 129–144.
5. *Coventry J., Kott L., Beversdorf W.D.* Manual for microspore culture technique for *Brassica napus* // In *Technical bulletin* (Ontario Agricultural College. Dept. of Crop Science); O.A.C. publication, 0489, University of Guelph. – 1988.
6. *Chuong P.V., Deslauriers C., Kott L.S., Beversdorf W.D.* Effects of donor genotype and bud sampling on microspore culture of *Brassica napus* // *Can. J. Bot.* – 1988. – Vol. 66. – P. 1653–1657.
7. *Custers J.B.M., Eds. M., Maluszynski K.J., Kasha B.P., Forster I.* Szarejko Microspore culture in rapeseed (*Brassica napus* L.) // *Doubled haploid production in crop plants.* – Kluwer Academic Publisher. – 2003. – P. 185–194.
8. *Forster B.P., Thomas W.T.B.* Doubled haploids in genetics and plant breeding // *Plant breeding reviews.* – 2010. – Т. 25. – С. 57–88.
9. *Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K.* Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells // *Exp Cell Res.* – 1968. – Vol. 50. – P. 151–158.
10. *Gland-Zwenger A.* Culture conditions affecting induction and regeneration in isolated microspore cultures of different *Brassica* species // *GCIRC Proceedings of the Ninth International Rapeseed Congress.* GCIRC, Cambridge, UK. – 1995. – С. 799–801.
11. *Huang B. et al.* Plant regeneration from microspore-derived embryos of *Brassica napus*: Effect of embryo age, culture temperature, osmotic pressure, and abscisic acid // *In vitro Cell Dev Biol.* – 1991. – Vol. 27. – P. 28–31.
12. *Klutschewski S.* Methodical improvements in microspore culture of *Brassica napus* L.: dis. zur Erlangung des Doktorgrades. – Göttingen, Germany, 2012. – P. 91.
13. *Kott L.S., Beversdorf W.D.* Enhanced plant regeneration from microspore-derived embryos of *Brassica napus* by chilling, partial desiccation and age selection // *Plant Cell Tissue Organ Cult.* – 1990. – Vol. 23. – Pp. 187–192.
14. *Lichter R.* Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus* // *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie.* – 1982. – Т. 105, № 5. – С. 427–434.
15. *Seguí-Simarro J.M.* Doubled haploid technology // *Methods in Molecular Biology.* – 2021. – Т. 2287.

16. *Sendra A.R.* Calcium and cell wall dynamics during microspore embryogenesis and doubled haploid production in rapeseed and eggplant: Thesis ... Doctor in Biotechnology. – Valencia, 2017. – P. 235.
17. *Smykalova I. et al.* Efficiency of microspore culture for doubled haploid production in the breeding project «czech winter rape» // *Genet. Plant Breed.* – 2006. – Pp. 58–71.
18. *Tian H., Yaoy C.H., Sun M.X.* High frequency conversion of microspore-derived embryos of *Brassica napus* cv. Topas by supplemental calcium and vitamins // *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* – 2004. – Vol. 76. – Pp. 159–165.
19. *Touraev A., Forster B.P., Jain S.M.* Advances in haploid production in higher plants. – Berlin: Springer, 2009. – С. 161–169.
20. *Yuan S. et al.* Effects of pH, MES, arabinogalactan-proteins on microspore cultures in white cabbage // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC).* – 2012. – Т. 110, № 1. – С. 69–76.
21. *Zhang G.Q. et al.* Plant development from microspore-derived embryos in oilseed rape as affected by chilling, desiccation and cotyledon excision // *Biologia Plantarum.* – 2006. – Т. 50, № 2. – С. 180–186.
22. *Wedzony M., Touraev A., Forster B.P., Jain S.M. et al.* Progress in doubled haploid technology in higher plants // *Advances in haploid production in higher plants.* Springer. – Dordrecht: Netherlands, 2009. – Pp. 1-33.
23. *Вишнякова А.В., Александрова А.А.* Изучение факторов, влияющих на регенерационную способность эмбриоидов рапса ярового, полученных в культуре изолированных микроспор // Сборник статей Международной научной конференции «Агробиотехнология-2021». – М.: Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, 2021. – С. 648–652.
24. *Зубарева И.А., Головешкина Е.Н., Виноградова С.В., Грибова Т.Н., Игнатов А.Н. и др.* Создание дигаплоидных линий *Brassica napus* L. – доноров устойчивости к вирусу мозаики турнепса // *Сельскохозяйственная биология.* – 2013. – № 5. – С. 122–125.
25. *Монахос С.Г.* Создание чистых линий – удвоенных гаплоидов капусты в культуре изолированных микроспор и селекция F1-гибридов на основе современных методов биотехнологии: Методические рекомендации. – М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2014. – 44 с.
26. *Синицына А.А., Вишнякова А.В., Александрова А.А., Монахос С.Г. и др.* Влияние условий культивирования на частоту прорастания/регенерации микроспорогенных эмбриоидов *Brassica oleracea* L. // *Известия ТСХА.* – 2021. – № 5. – С. 39–54.
27. *Синицына А.А.* Сравнительная оценка выхода удвоенных гаплоидов *Brassica oleracea* var. *capitata* L. и *Brassica napus* L. в культуре изолированных микроспор / А.А. Синицына, А.В. Вишнякова, С.Г. Монахос // *Картофель и овощи.* – 2022. – № 4. – С. 37–40. – DOI 10.25630/PAV.2022.29.31.008. – EDN HAFNFC.

## FACTORS OF DIRECT GERMINATION OF MICROSPORE DERIVED EMBRYOS OF *BRASSICA NAPUS* L.

A.V. VISHNYAKOVA, A.A. ALEKSANDROVA, S.G. MONAKHOS

(Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

*Isolated microspore culture is the main method of producing doubled rapeseed haploids and is widely used in research institutions and commercial companies. The protocol of rapeseed embryo production is well developed and efficient for many genotypes, but some issues remain due to the low regeneration frequency of plantlets from embryos. When the standard protocol is applied, regeneration of plantlets from microspore-derived embryos usually involves a callus-forming stage*

followed by regeneration of adventitious shoots or secondary embryos, which prolong the period of plantlet regeneration and makes production of doubled haploids complicated. Identifying factors, which affect the frequency of direct embryo germination will increase the frequency of plantlet formation and reduce the period of DH plant production. In this work, we studied the effect of medium pH on the duration of plantlet regeneration from rapeseed microspore-derived embryos and effect of their low temperature treatment of +1 and +5°C for 3, 6, 8, 9, 12 days in complete darkness on the embryo maturation and germination. Raising the pH of the nutrient medium from 5.8 to 6.1 increased the frequency of direct embryos germination up to 18% and the overall frequency of plantlet regeneration up to 76%. Culturing embryos at low temperatures effected the frequency of direct germination of embryos into plantlets. The maximum frequency of 44–53% direct embryo germination was observed when cultured at +1°C for 6 and 9 days, when embryos were cultured at +5°C the frequency of direct germination was 0–10%. In the control variant without cold treatment it was 16%.

**Key words:** isolated microspore culture, spring rapeseed, regeneration frequency, DH technology, cold treatment, embryo, *Brassica napus*.

## References

1. Ahmadi B., Ghadimzadeh M., Moghaddam A F, Alizadeh K. Embryogenesis and plant regeneration from isolated microspores of *Brassica napus* L. under different incubation time. *J. Food Agric. Environ.* 2011; 9: 434–437.
2. Babbar S., Agarwal P. Isolated microspore culture of *Brassica*: an experimental tool for developmental studies and crop improvement. *Indian J.* 2004; 3: 185–202.
3. Belmonte M.F., Ambrose S.J., Ross A.R.S., Abrams S.R., Stasolla C. Improved development of microspore derived embryo cultures of *Brassica napus* cv Topaz following changes in glutathione metabolism. *Physiologia Plantarum.* 2006; 127: 690–700.
4. Corral-Martínez P., Camacho-Fernandez C., Mir R., Seguí-Simarro J.M. Doubled haploid production in high-and low-response genotypes of rapeseed (*Brassica napus*) through isolated microspore culture. *Doubled haploid technology.* Humana, New York, NY. 2021: 129–144.
5. Coventry J., Kott L., Beversdorf W.D. Manual for microspore culture technique for *Brassica napus*. In Technical bulletin (Ontario Agricultural College. Dept. of Crop Science); O.A.C. publication, 0489, University of Guelph. 1988.
6. Chuong P.V., Deslauriers C., Kott L.S., Beversdorf W.D. Effects of donor genotype and bud sampling on microspore culture of *Brassica napus*. *Can. J. Bot.* 1988; 66: 1653–1657.
7. Custers J.B.M., Maluszynski Eds. M., Kasha K.J., Forster B.P., Szarejko I. Microspore culture in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Doubled haploid production in crop plants.* Kluwer Academic Publisher. 2003: 185–194.
8. Forster B.P., Thomas W.T.B. Doubled haploids in genetics and plant breeding // *Plant breeding reviews.* 2010; 25: 57–88.
9. Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells. *Exp Cell Res.* 1968; 50: 151–158.
10. Gland-Zwenger A. Culture conditions affecting induction and regeneration in isolated microspore cultures of different *Brassica* species. *GCIRC Proceedings of the Ninth International Rapeseed Congress.* GCIRC, Cambridge, UK. 1995: 799–801.
11. Huang B. *et al.* Plant regeneration from microspore-derived embryos of *Brassica napus*: Effect of embryo age, culture temperature, osmotic pressure, and abscisic acid. *In vitro Cell Dev Biol.* 1991; 27: 28-31.
12. Klutschewski S. Methodical improvements in microspore culture of *Brassica napus* L.: dis. zur Erlangung des Doktorgrades. Göttingen, Germany, 2012: 91.

13. Kott L.S., Beversdorf W.D. Enhanced plant regeneration from microspore-derived embryos of *Brassica napus* by chilling, partial desiccation and age selection. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 1990; 23: 187–192.
14. Lichter R. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie.* 1982; 105 (5): 427–434.
15. Seguí-Simarro J.M. Doubled haploid technology. *Methods in Molecular Biology.* 2021; 2287.
16. Sendra A.R. Calcium and cell wall dynamics during microspore embryogenesis and doubled haploid production in rapeseed and eggplant: Thesis ... Doctor in Biotechnology. Valencia, 2017: 235.
17. Smykalova I., et al. Efficiency of microspore culture for doubled haploid production in the breeding project “czech winter rape”. *Genet. Plant Breed.* 2006: 58–71.
18. Tian H. et al. High frequency conversion of microspore-derived embryos of *Brassica napus* cv. Topas by supplemental calcium and vitamins. *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* 2004; 76: 159–165.
19. Touraev A., Forster B.P., Jain S.M. Advances in haploid production in higher plants. Berlin: Springer. 2009: 161–169.
20. Yuan S. et al. Effects of pH, MES, arabinogalactan-proteins on microspore cultures in white cabbage. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC).* 2012; 110 (1): 69–76.
21. Zhang G.Q. et al. Plant development from microspore-derived embryos in oil-seed rape as affected by chilling, desiccation and cotyledon excision. *Biologia Plantarum.* 2006; 50 (2): 180–186.
22. Wedzony M. et al. Progress in doubled haploid technology in higher plants. Advances in haploid production in higher plants. Springer. Dordrecht, Netherlands. 2009: 1-33.
23. Vishnyakova A.V., Aleksandrova A.A. Izuchenie faktorov, vliyayushchikh na regeneratsionnyuyu sposobnost' embrioidov rapsa yarovogo, poluchennykh v kul'ture izolirovannykh mikrospor [Study of factors affecting the regenerative capacity of spring rapeseed embryos obtained in culture of isolated microspores]. *Sbornik statey mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii: “Agrobiotekhnologiya-2021”.* Moscow: Rossiyskiy gosudarstvenniy agrarniy universitet – MSKkA im. K.A. Timiryazeva, 2021: 648–652. (In Rus.)
24. Zubareva I.A., Goloveshkina E.N., Vinogradova S.V., Gribova T.N., Ignatov A.N. Sozdanie digaploidnykh liniy *Brassica napus* L. – donorov ustoychivosti k virusu mozaiki turnepa [Development of *Turnip mosaic virus* resistant doubled haploid lines of *Brassica napus* L]. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya.* 2013; 5: 122–125. (In Rus.)
25. Monakhos S.G. Sozdanie chistyykh liniy – udvoennykh gaploidov kapusty v kul'ture izolirovannykh mikrospor i selektsiya F1-gibridov na osnove sovremennykh metodov biotekhnologii: metod. Rekomendatsii [Creation of pure lines – doubled haploids of cabbage in the culture of isolated microspores and selection of F1 hybrids based on modern methods of biotechnology: guidelines]. Moscow: Izd-vo RGAU – MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 2014: 44. (In Rus.)
26. Sinitsyna A.A., Vishnyakova A.V., Aleksandrova A.A., Monakhos S.G. Vliyanie usloviy kul'tivirovaniya na chastotu prorastaniya/regeneratsii mikrosporogennykh embrioidov *Brassica oleracea* L. [Effect of cultivation conditions on the germination/regeneration frequency of microsporogenic embryos *Brassica Oleracea* L.]. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii.* 2021; 5: 39–54. (In Rus.)
27. Sinitsyna A.A., Vishnyakova A.V., Monakhos S.G. Sravnitel'naya otsenka vykhoda udvoennykh gaploidov *Brassica oleracea* var. *capitata* L. i *Brassica napus* L. v kul'ture izolirovannykh mikrospor [Comparative evaluation of the yield of doubled haploids of *Brassica oleracea* var. *capitata* L. and *Brassica napus* L. in isolated microspore culture]. *Kartofel' i ovoshchi.* 2022; 4: 37–40. (In Rus.)

**Вишнякова Анастасия Васильевна**, канд. с.-х. наук, доцент кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976-41-71; e-mail: a.vishnyakova@rgau-msha.ru)

**Александрова Анастасия Алексеевна**, аспирант кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (910) 466-03-09; e-mail: a.alexandrova@rgau-msha.ru)

**Монахос Сократ Григорьевич**, д-р с.-х. наук, профессор, заведующий кафедрой ботаники, селекции и семеноводства садовых растений ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976-41-71; e-mail: s.monakhos@rgau-msha.ru)

**Anastasiya V. Vishnyakova**, PhD (Ag), Associate Professor of the Department of Botany, Plant Breeding and Seed Technology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976-41-71; E-mail: a.vishnyakova@rgau-msha.ru)

**Anastasiya A. Aleksandrova**, post-graduate student of the Department of Botany, Plant Breeding and Seed Technology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (910) 466-03-09; E-mail: nastya445577@gmail.com)

**Sokrat G. Monakhos**, DSc (Ag), Professor, Head of the Department of Botany, Plant Breeding and Seed Technology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976-41-71; E-mail: s.monakhos@rgau-msha.ru)

## ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЗЕРНА СОРТОВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ С ФИОЛЕТОВОЙ ОКРАСКОЙ ЗЕРНА В УСЛОВИЯХ ЦРНЗ

И.Н. ВОРОНЧИХИНА<sup>1</sup>, В.С. СИДОРЕНКО<sup>2</sup>, В.С. РУБЕЦ<sup>3</sup>, В.В. ПЫЛЬНЕВ<sup>3</sup>,  
В.Н. ИГОНИН<sup>3</sup>, В.В. ВОРОНЧИХИН<sup>1</sup>, И.В. ГРУЗДЕВ<sup>1,4</sup>

(<sup>1</sup> ГБС РАН; <sup>2</sup> ФНУ ЗБК

<sup>3</sup> Российский государственный аграрный университет –  
МСХА имени К.А. Тимирязева

<sup>4</sup> ВНИИСБ)

*В статье представлены результаты изучения хлебопекарных качеств зерна трех сортов мягкой яровой пшеницы, характеризующихся фиолетовой окраской зерна, и краснозерного стандарта Злата в условиях ЦРНЗ. Годы исследований характеризовались контрастными метеорологическими условиями: избыточно увлажненный 2020 г. и засушливый 2021 г. Определение содержания белка проводили на спектрофотометре. Клейковину отмывали ручным методом. Выпечку хлеба проводили по модифицированной методике Государственной комиссии по испытанию и охране селекционных достижений. Аллельный состав высокомолекулярных глютенинов исследовали методом электрофореза по Singh et al. (1991) в модификации Branlard et al. (2001). Установлено, что все сорта яровой пшеницы с фиолетовым зерном по качеству мало уступают стандарту, отличаясь от него двумя аллелями высокомолекулярных глютенинов, влияющих на стабильность проявления хлебопекарных качеств по годам. Качество зерна сильно зависит от метеорологических условий вегетационного периода. Все изученные сорта яровой пшеницы с фиолетовым цветом зерна способны формировать зерно, пригодное для использования в хлебопекарных целях в условиях Нечернозёмной зоны. Количественное содержание белка и сырой клейковины в зерне варьирует по годам, но не уступает стандарту. Качество клейковины варьирует в пределах I и II групп. При этом в условиях засухи клейковина формировалась как более крепкая. Все сорта показали высокий потенциал объемного выхода хлеба: на уровне или выше стандарта. Низкий балл общей хлебопекарной оценки объясняется включениями частиц фиолетовых отрубей, обусловивших более темную окраску мякиша. Положительная корреляционная зависимость между объемным выходом хлеба и содержанием белка проявилась сильнее в год с пониженным содержанием белка в зерне.*

**Ключевые слова:** яровая пшеница, функциональное питание, фиолетовая окраска зерна, антоцианы, антиоксиданты, сорта, хлебопекарная оценка, композиции глютенинов.

### Введение

С развитием технологий переработки продукции растениеводства снизилась полноценность рациона человека вследствие использования рафинированных продуктов и широкого применения химических веществ в качестве улучшителей и наполнителей. При этом возросло число тяжелых заболеваний (различного рода аллергии, сердечно-сосудистые, онкологические и т.п.), что обратило на себя внимание ученых и общественных деятелей всего мира. В результате была сформулирована концепция функционального питания, предполагающая создание особой группы продуктов, не являющихся лекарственными препаратами, но улучшающих функционирование человеческого организма.

В нашей стране вышеназванная проблема также не осталась без внимания. Так, в 2006 г. был введен Национальный стандарт ГОСТ Р 52349–2005 «Продукты

пищевые функциональные. Термины и определения». Согласно этому ГОСТу «Функциональный пищевой продукт – это специальный пищевой продукт, предназначенный для систематического употребления в составе пищевых рационов всеми возрастными группами здорового населения, обладающий научно обоснованными и подтвержденными свойствами, снижающий риск развития заболеваний, связанных с питанием, предотвращающий дефицит или восполняющий имеющийся в организме человека дефицит питательных веществ, сохраняющий и улучшающий здоровье за счет наличия в его составе функциональных пищевых ингредиентов» [1, 2].

В состав функциональных пищевых ингредиентов входят, в том числе, вторичные растительные соединения (флавоноиды/полифенолы, каротиноиды, ликопин и др.). К веществам этой группы относятся природные водорастворимые пигменты – антоцианы, придающие фиолетовую окраску растениям или их частям. Антоцианы относятся к флавоноидным пигментам, которые считаются самыми сильными антиоксидантами, способными проявлять профилактические свойства в отношении ряда заболеваний [2, 16].

Вклад в развитие функционального питания в нашей стране может внести создание сортов хлебопекарной пшеницы с фиолетовым зерном. Его окраска обусловлена антоцианом цианидин-3-глюкозидазой, основное количество которого сконцентрировано в хлорофиллоносном слое перикарпия зерновки [10, 11, 13]. Комплементарные гены фиолетовой окраски Pp-B1 и Pp3, локализованные в 7В- и 2А-хромосомах соответственно, были введены в кормовые сорта мягкой пшеницы от тетраплоидного эндемика Эфиопии – *Triticum aethiopicum* [5, 16]. Обнаружено сцепление этих генов с хозяйственно-ценными генами, детерминирующими качество зерна, устойчивость к болезням, засухе, продолжительность вегетационного периода и др. [15, 16]. Это позволяет предполагать возможность получения ценного селекционного материала для создания коммерческих сортов пшеницы с фиолетовым зерном, пригодных для изготовления хлеба с функциональными свойствами.

В настоящее время работа с фиолетовозерными сортообразцами яровой пшеницы проводится в Омском ГАУ, Институте цитологии и генетики СО РАН, Татарском НИИСХ, ФИЦ КазНЦ РАН, ФНЦ зернобобовых и крупяных культур, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, в Отделе отдаленной гибридизации ГБС РАН, и уже есть успехи в этом направлении.

Впервые в 2022 г. в Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию, появился фиолетовозерный сорт яровой мягкой пшеницы Надира селекции Татарского НИИСХ, включенный в Госреестр по Волго-Вятскому, Средневолжскому и Уральскому регионам [6]. Новый сорт Памяти Коновалова селекции ФНЦ зернобобовых и крупяных культур находится на Государственном сортоиспытании (Заявка № 82458 от 18 ноября 2020 г.). Он заявлен для Центрально-Черноземного региона. Получена изогенная линия сорта Иволга с фиолетовым зерном в РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Однако технологические качества сортов с фиолетовым зерном нуждаются во всестороннем изучении для успешного использования их в селекционных программах.

Центральный район Нечерноземной зоны России относится к зонам рискованного земледелия. Однако доказано, что имеется возможность получения сортов яровой пшеницы со стабильной урожайностью и высоким качеством зерна [14].

Одним из важнейших показателей качества зерна является содержание в нем клейковины. Клейковина – уникальное вещество, характерное для зерна пшеницы, состоящее в основном из сложного комплекса запасных белков двух фракций: проламинов (спирторастворимая фракция, у пшеницы называются глиадинами); глютелинов (щелочерастворимая фракция, у пшеницы называются глютелинами). Эти белки находятся в сложном взаимоотношении, которое определяет функциональные

свойства клейковины и качество испеченного хлеба [8]. Фракционный состав глютеинов определяется путем электрофореза.

Наибольший интерес представляют высокомолекулярные глютеины (HMW-GS), которые определяются полиморфными локусами *Glu-A1*, *Glu-B1* и *Glu-D1*, расположенными в хромосомах первой гомеологической группы [19]. Показано, что определенные композиции высокомолекулярных глютеинов могут влиять на хлебопекарные качества пшеницы. Так, аллелям локуса *Glu-A1* – *Glu-Ax1*, *Glu-Ax2\** и Null-аллель присвоены баллы согласно степени их влияния на хлебопекарные качества: 3, 3 и 1 соответственно. Лocus *Glu-B1* имеет пять аллелей с различными баллами оценки: *Vx7+Vy8* (3 балла); *Vx7+Vy9* (2 балла); *Vx6+Vy8* (1 балл); *Vx17+Vy18* (3 балла); *Vx7* (1 балл). Лocus *Glu-D1* имеет четыре аллеля: *D5+Dy10* (4 балла); *Dx2+Dy12* (2 балла); *Dx3+Dy12* (2 балла); *Dx4+Dy12* (2 балла) [4]. Суммируя баллы для всех локусов, имеющих у конкретного генотипа пшеницы, можно получить глютеиновый индекс (*Glu-score*), служащий показателем хлебопекарных качеств [18].

В статье приводятся результаты прямой оценки хлебопекарных качеств зерна пшеницы с фиолетовым зерном. Сопоставление этих данных с составом глютеин-кодирующих локусов позволит выявить компонентный состав основной фракции белков клейковины и потенциальные возможности изученных сортов в условиях ЦРНЗ.

**Цель исследований:** проведение сравнительной оценки биохимических и хлебопекарных качеств сортов яровой пшеницы с фиолетовым зерном, сопоставление их с комбинациями высокомолекулярных глютеинов (HMW-GS) для выявления соответствия показателя глютеинового индекса (*Glu-score*) реальным хлебопекарным качествам в условиях ЦРНЗ.

### Материал и методика исследований

Материалом исследований послужили три сорта яровой мягкой пшеницы с фиолетовым зерном: Иволга фиолетовая, Памяти Коновалова и Laval 19. В качестве стандарта использовали сорт Злата (табл. 1).

Таблица 1

#### Исследованные сорта яровой пшеницы

№ п/п	Название сорта	Разновидность	Происхождение
1	Иволга фиолетовая	<i>vigorovii</i>	РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева
2	Памяти Коновалова	<i>uralicum</i>	ФНЦ зернобобовых и крупяных культур, г. Орел
3	Laval 19	<i>uralicum</i>	Канада, Квебек
4	Злата (стандарт)	<i>lutescens</i>	ФИЦ «Немчиновка», Верхневолжский ФАНЦ

Работа проведена в условиях ЦРНЗ в 2020–2021 гг. с использованием общепринятых в селекционном процессе методик Государственного сортоиспытания [9]. Площадь делянки составила 1 м<sup>2</sup>, повторность 3-кратная, размещение систематическое, агротехника, общепринятая для зоны; посев кассетной сеялкой, уборка и обмолот вручную.

Аллельное состояние глютеин-кодирующих локусов устанавливали по результатам электрофореза запасных белков эндосперма [17, 19, 20].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа и программ «DIANA», «AGROS». Данные,

выраженные в процентах, перед обработкой были преобразованы в угол-арксинус  $\sqrt{\text{процент}}$  с последующим обратным переводом [7].

Годы исследований отличались по метеорологическим условиям (рис. 1). В 2020 г. растения были обеспечены в избытке влагой и теплом, что привело к развитию большой площади фотосинтезирующей поверхности, обеспечившей высокий урожай зерна с низким содержанием белка. В 2021 г. метеорологические условия вегетации не способствовали получению высоких урожаев. Засуха в период от формирования до созревания зерна привела к недостаточному накоплению крахмала в эндосперме и, как следствие, к высокому содержанию белка.

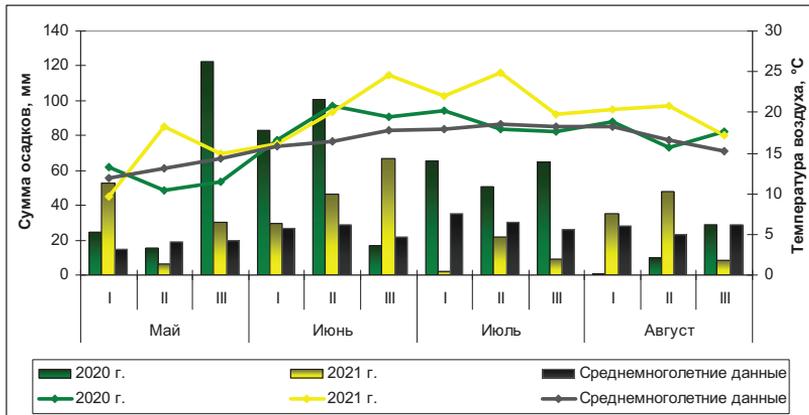


Рис. 1. Метеорологические условия лет исследований (2020–2021 гг.)

## Результаты и их обсуждение

Зерно всех сортов пшеницы, сформировавшееся в условиях избыточного увлажнения 2020 г., характеризовалось низким содержанием белка и клейковины (табл. 2). Сорты достоверно различались по этим показателям. Стандарт имел среднее содержание белка (12,8%), соответствующее хорошему филлеру [10]. Иволга фиолетовая характеризовалась минимальным значением показателя, соответствующим слабой пшенице. Самым высоким содержание белка было у сортов Памяти Коновалова и Laval 19 (более 13%), соответствующее уровню ценной по качеству пшеницы.

Клейковина, отмытая из шрота фиолетовозерных сортов, получилась темной, окрашенной антоцианами (рис. 2). По содержанию сырой клейковины только Иволга фиолетовая отличалась от всех остальных сортов минимальными значениями на уровне слабой пшеницы. У этого сорта клейковина плохо отмывалась, крошилась, тяжело формировала связную массу. Возможно, в процессе отмывания часть ее была утеряна. При этом качество клейковины было высоким, отнесенным к I группе (табл. 3). Остальные сорта имели содержание сырой клейковины на уровне сильной пшеницы (28–30%). У сорта Laval 19 качество соответствовало I группе, у остальных сортов – II группе. Такая характеристика клейковинного комплекса позволяет предположить довольно низкие хлебопекарные качества у Иволги фиолетовой и достаточно хорошие – у всех остальных сортов.

Засуха и высокая температура в период от формирования до созревания зерна в 2021 г. способствовали усыханию зерна опытных сортов яровой пшеницы раньше времени, недостаточной выполненности и высокому содержанию белка (табл. 2). Рекордным содержанием белка в зерне характеризовался сорт Laval 19 (18,4%). Остальные сорта имели значения, превышающие 16%. Содержание сырой клейковины

у всех сортов было очень высоким – выше 30%. Качество ее соответствовало I группе у всех сортов, за исключением сорта Иволга фиолетовая, у которого качество соответствовало II группе (табл. 3). Такая характеристика предполагает высокие хлебопекарные качества, что и было получено при лабораторной выпечке (табл. 4, рис. 3).

Таблица 2

**Характеристика фиолетовозерных сортов пшеницы по биохимическим свойствам зерна, 2020–2021 гг.**

Сорт	Содержание белка, %			Содержание сырой клейковины, %			
	2020 г.	2021 г.	$\bar{x}$	2020 г.	2021 г.	$\bar{x}$	V, %
«Иволга фиолетовая» [4]	10,8 <b>a*</b>	16,8 <b>b</b>	13,8	18,2	36,4	27,3	48
Памяти Коновалова	13,5 <b>c</b>	16,4 <b>a</b>	15,0	30,2	31,5	30,9	3
Laval 19	13,3 <b>c</b>	18,4 <b>c</b>	15,8	28,2	32,2	30,2	9
Злата (стандарт)	12,8 <b>b</b>	16,8 <b>b</b>	14,8	30,6	36,1	33,3	12
НСР <sub>05</sub>	0,3	0,2	3,0	–	–	17,1	–

\*Буквами обозначены достоверные различия между вариантами по критерию Дункана. Одинаковые буквы означают отсутствие различий, разные буквы – их наличие. Отсутствие букв означает отсутствие достоверных различий между вариантами.



**Рис. 2.** Клейковина фиолетовозерных сортов пшеницы, 2020 г.

Проследим влияние метеорологических условий года на содержание сырой клейковины в зерне. Менее всего влиянию года оказался подвержен сорт Памяти Коновалова (коэффициент вариации – 3%), за ним следует Laval 19 с коэффициентом вариации 9%. Стандарт Злата характеризовался средней вариабельностью признака (коэффициент вариации – 12%), а Иволга фиолетовая – очень сильной вариабельностью (коэффициент вариации – 48%).

В 2020 г. хлебопекарные качества всех представленных сортов пшеницы были невысокими (табл. 4, рис. 3). Объемный выход хлеба фиолетовозерных сортов Памяти Коновалова и Laval 19 достоверно превышал аналогичный показатель у стандарта и сорта Иволга фиолетовая. Тем не менее, согласно баллу общей хлебопекарной оценки, только стандарт Злата соответствовал уровню сильной пшеницы. Сорта Памяти Коновалова и Laval 19 соответствовали уровню хорошего филлера, а Иволга фиолетовая – уровню удовлетворительного филлера.

В 2021 г. сложилось уникальное сочетание метеорологических условий, позволившее выявить потенциальные возможности изученных сортов яровой пшеницы. Хлебопекарные качества всех сортов были превосходными (табл. 4, рис. 3). Максимальными значениями объемного выхода хлеба отличались сорта Иволга фиолетовая

и Laval 19. При этом их общая хлебопекарная оценка получилась несколько ниже, чем у стандарта. Причиной стало то, что при анализе показателей качества выпеченного хлеба эти сорта получили низкие баллы за цвет мякиша, который имел сероватый оттенок вследствие попадания в муку частичек фиолетовых отрубей. Тем не менее все фиолетовозерные сорта по общей хлебопекарной оценке соответствовали уровню ценной по качеству пшеницы (4,0–4,4 балла).

Представленные данные позволяют увидеть влияние метеорологических условий года на формирование хлебопекарных качеств сортов яровой пшеницы с фиолетовым зерном. Заметно, что у сорта Памяти Коновалова хлебопекарные качества менее всего подвержены влиянию условий вегетации. У сортов Иволга фиолетовая и Laval 19 в засушливом году проявились потенциальные возможности, незаметные в остальных условиях. Стандарт Злата в оба года имел одинаковый общий балл хлебопекарной оценки, хотя и сильно варьировал по объемному выходу хлеба.

Таблица 3

**Качество клейковины фиолетовозерных сортов пшеницы, 2020–2021 гг. [4]**

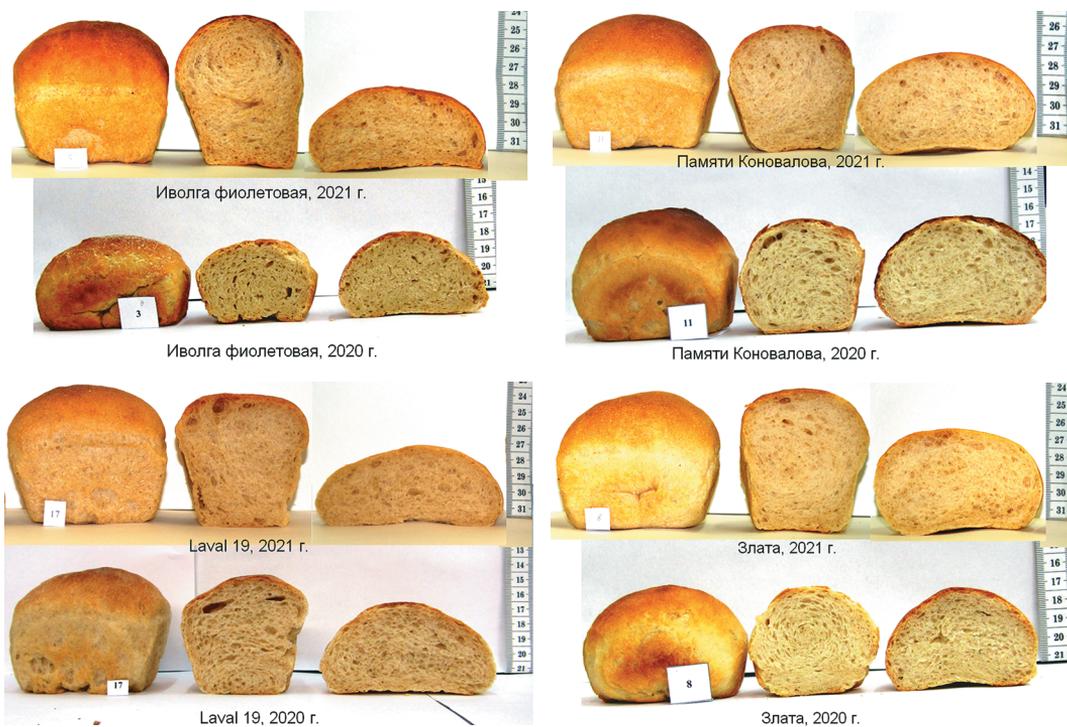
Сорт	Характеристика клейковины по упругости					
	2020 г.			2021 г.		
	Упругость по ИДК	Группа качества	Характеристика клейковины	Упругость по ИДК	Группа качества	Характеристика клейковины
Иволга фиолетовая	53,43	I	хорошая	76,72	II	удовлетворительная, слабая
Памяти Коновалова	78,91	II	удовлетворительная, слабая	63,2	I	хорошая
Laval 19	72,92	I	хорошая	56,14	I	хорошая
Злата (стандарт)	75,24	II	хорошая	60,51	I	хорошая

Таблица 4

**Характеристика хлебопекарных качеств фиолетовозерных сортов пшеницы, 2020–2021 гг.**

Сорт	Объемный выход хлеба, мл			Общая хлебопекарная оценка, балл	
	2020 г.	2021 г.	среднее	2020 г.	2021 г.
Иволга фиолетовая	229 <b>a</b>	753 <b>c</b>	491	3,0	4,3
Памяти Коновалова	408 <b>bc</b>	558 <b>a</b>	483	3,9	4,1
Laval 19	455 <b>c</b>	713 <b>c</b>	584	3,6	4,4
Злата (стандарт)	295 <b>a</b>	598 <b>a</b>	446	4,6	4,6
НСР <sub>05</sub>	82	56	нет	–	–

\*Буквами обозначены достоверные различия между вариантами по критерию Дункана.



**Рис. 3.** Влияние метеорологических условий вегетации на объемный выход хлеба

Как известно, хлебопекарные качества зерна пшеницы зависят от содержания белка и клейковины [1, 3]. В наших исследованиях это правило проявилось в оба года. Так, коэффициент корреляции между объемным выходом хлеба и содержанием белка в зерне составил 0,868 и 0,533 для 2020 и 2021 гг. соответственно. При этом связь первого показателя с содержанием сырой клейковины в оба года оказалась ниже: коэффициент корреляции составил 0,653 в 2020 г., и только 0,357 – в 2021 г. Как ни странно, в 2021 г. высокие показатели белковости зерна коррелировали с хлебопекарными качествами слабее, чем низкие, в 2020 г.

Анализ электрофореграмм глютелинов изученных сортов фиолетовозерной пшеницы показал однообразие по композициям высокомолекулярных глютелинов (табл. 5, рис. 4). Модельный сорт Chinese Spring имеет композицию высокомолекулярных глютелинов, дающих в сумме низкий балл глютелинового индекса – 6. Однако он имеет аллель Glu B1 (7+8), позволяющий идентифицировать аналогичный аллель у сорта Злата.

Состав глютелинов фиолетовозерных сортов соответствовал модельному сорту Лада, имеющему высокий глютелиновый индекс – 9. Сравнение общей хлебопекарной оценки и глютелинового индекса показал, что у фиолетовозерных сортов имеется высокий потенциал хлебопекарных качеств, соответствующий уровню ценной по качеству пшенице, проявляющийся в годы недостаточного увлажнения. Только стандарт Злата отличался от них наличием иных аллелей локусов Glu A1 (Glu-Ax2\*) и Glu B1 (Bx7+By8). Его глютелиновый индекс был максимальным – 10. Это позволяет предполагать более высокие хлебопекарные качества сорта Злата относительно всех фиолетовозерных сортов, что было подтверждено сравнением общей хлебопекарной оценки, которая в оба года исследований соответствовала уровню сильной по качеству пшенице. Очевидно, что такая комбинация высокомолекулярных глютелинов определяет стабильность качества хлеба пшеницы.

### Генетические формулы сортов яровой пшеницы по спектру высокомолекулярных глютелинов [4]

Сорт	Формулы BM глютелинов			Показатель качества (Glu-score)
	Glu A1	Glu B1	Glu D1	
Chinese Spring	Null	7+8	2+12	6
Лада	1	7+9	5+10	9
Иволга фиолетовая	1	7+9	5+10	9
Памяти Коновалова	1	7+9	5+10	9
Laval 19	1	7+9	5+10	9
Злата	2*	7+8	5+10	10

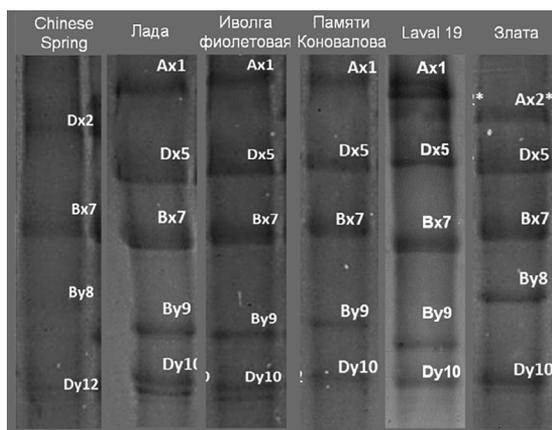


Рис. 4. Электрофореграммы глютелинов изученных сортов яровой пшеницы

### Выводы

1. Все изученные сорта яровой пшеницы с фиолетовым цветом зерна способны формировать зерно, пригодное для использования в хлебопекарных целях в условиях Нечернозёмной зоны. Качество зерна сильно зависит от метеорологических условий вегетационного периода.

2. Количественное содержание белка сырой клейковины в зерне варьирует по годам, но не уступает стандарту. Качество клейковины варьировало в пределах I и II групп. При этом в условиях засухи клейковина формировалась как более крепкая.

3. Все сорта показали высокий потенциал объемного выхода хлеба: на уровне или выше стандарта. Низкий балл общей хлебопекарной оценки объясняется включениями частиц фиолетовых отрубей, обусловивших более темную окраску мякиша.

4. Положительная корреляционная зависимость между объемным выходом хлеба и содержанием белка проявилась сильнее в год с пониженным содержанием белка в зерне.

5. Все сорта с фиолетовым зерном имели одинаковый состав высокомолекулярных глютелинов, идентичный сорту Лада и отличный от стандарта Злата двумя аллелями.

6. Выявлено соответствие композиций высокомолекулярных глютеинов общей хлебопекарной оценке опытных сортов пшеницы. Фиолетовозерные сорта с композициями Glu A1 (1), Glu B1 (7+9) и Glu D1 (5+10) характеризовались нестабильным проявлением хлебопекарных качеств по годам. Сорт Злата с композицией Glu A1 (2\*), Glu B1 (7+8) и Glu D1 (5+10) проявлял стабильно высокие показатели хлебопекарной оценки.

*Сотрудниками ГБС РАН исследование выполнено в рамках ГЗ ГБС РАН (№ 122042500074–5)*

### Библиографический список

1. Абделькави Р.Н., Щуклина О.А., Ермоленко О.И., Соловьев А.А. Стабильность и пластичность генотипов яровой тритикале по урожайности и качеству зерна // *Аграрный научный журнал*. – 2020. – № 4. – С. 4–9.
2. Василова Н.З., Асхадуллин Д.Ф., Багабиева Э.З. и др. Фиолетовозерный сорт яровой мягкой пшеницы Надира // *Зернобобовые и крупяные культуры*. – 2021. – № 4 (40). – С. 66–75.
3. Ворончихина И.Н., Ворончихин В.В., Рубец В.С., Пыльнев В.В., Клепикова А.С. Оценка коллекции яровой мягкой пшеницы в условиях Центрального района Нечерноземной зоны России // *Аграрный научный журнал*. – 2021. – № 8. – С. 13–18.
4. Ворончихина И.Н. Комплексная оценка коллекции мягкой яровой пшеницы в условиях Центрального района Нечерноземной зоны России: Дис. ... канд. биол. наук. – Москва, 2022. – 298 с.
5. Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. – Изд. 2-е, испр. и доп. / Российская академия наук, Сибирское отделение, Институт цитологии и генетики. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2012. – 523 с.
6. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. – Т. 1 «Сорта растений»: Официальное издание. – М.: ФГБНУ «Росинформгротех», 2022. – 719 с.
7. Доспехов Б.Д. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М.: Альянс, 2014. – 351 с.
8. Козьмина Н.П., Гунькин, Суслиянов Г.М. Теоретические основы прогрессивных технологий. Зерноведение (с основами биохимии растений). – М.: Колос, 2006. – 464 с.
9. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. – Вып. первый. Общая часть / Под общ. ред. М.А. Федина. – М., 1985. – 270 с.
10. Носатовский А.И. Пшеница. Биология: М. – М.: Государственное изд-во сельскохозяйственной литературы, 1965. – 407 с.
11. Полонский В.И., Лоскутов И.Г. Селекция на содержание антиоксидантов в зерне как перспективное направление для получения продуктов здорового питания // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. – 2018. – № 22 (3). – С. 343–352.
12. Практикум по селекции и семеноводству полевых культур: Учебное пособие / Под ред. проф. В.В. Пыльнева. – СПб.: Лань, 2022. – 448 с.
13. Рубец В.С., Ворончихина И.Н., Игонин В.Н., Сидоренко В.С., Ворончихин В.В. Характеристика фиолетовозерных сортов яровой мягкой пшеницы в условиях Центрального района Нечерноземной зоны России // *Международный сельскохозяйственный журнал*. – 2022. – № 5. – С. 525–529.
14. Справочник агронома по сельскохозяйственной метеорологии. Нечерноземная зона Европейской части РСФСР / Под. ред. И.Г. Грингофа. – Л.: Гидрометеиздат, 1986. – 518 с.

15. Фисенко А.В., Калмыкова Л.П., Кузнецова Н.Л., Кузьмина Н.П., Ермоленко О.И., Упельник В.П. Селекция фиолетовозерной мягкой пшеницы и ее технологические свойства // *Аграрная Россия*. – 2020. – № 10. – С. 43–48.
16. Хлесткина Е.К. Гены, детерминирующие окраску различных органов пшеницы // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. – 2012. – Т. 16, № 1. – С. 202–216.
17. Branlard G., Dardevet M., Amiour N., Igrejas G. Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Genetic Resources and Crop Evolution*. – 2001. – Vol. 50. – Pp. 669–679.
18. Payne P.I., Nightingale M.A., Krattiger A.F., Holt L.M. The relationship between HMW glutenin subunits composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 1987. – Vol. 40. – Pp. 51–65.
19. Payne P.L., Lawrence G. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat // *Cereal Research Communications*. – 1983. – Vol. 11. – Pp. 29–35.
20. Singh N.K., Shepherd K.W., Langridge P. et al. Purification and biochemical characterization of triticin, a legumin-like protein in wheat endosperm // *Journal of Cereal Science*. – 1991. – Vol. 13. – Pp. 207–219.

## EVALUATING THE GRAIN QUALITY OF SPRING WHEAT VARIETIES WITH PURPLE GRAIN COLORING IN THE CONDITIONS OF THE CENTRAL REGION OF THE NON-CHERNOZEM ZONE

I.N. VORONCHIKHINA<sup>1</sup>, V.S. SIDORENKO<sup>2</sup>, V.S. RUBETS<sup>3</sup>,  
V.V. PYLNEV<sup>3</sup>, V.N. IGONIN<sup>3</sup>, V.V. VORONCHIKHIN<sup>1</sup>, I.V. GRUZDEV<sup>1,4</sup>

(<sup>1</sup>N.V.Tsitsin's Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences;

<sup>2</sup>Federal Scientific Center of Legumes and Groat Crops;

<sup>3</sup>Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy;

<sup>4</sup>All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology)

*The article presents the results of the study of the baking qualities of grain of three varieties of soft spring wheat characterized by purple grain colouring, and the red grain standard of Zlata in the conditions of the Central region of the Non-Chernozem zone. The years of the study were characterized by contrasting meteorological conditions – excessively humid year 2020 and arid year 2021. Protein content was determined using a spectrophotometer. Gluten was washed manually. Bread baking was carried out according to the modified methodology of the State Commission for Testing and Protection of Breeding Achievements. The allelic composition of high molecular weight glutenins was carried out by electrophoresis according to Singh et al., (1991) in the modification of Branlard et al. (2001). It has been found that all varieties of spring wheat with purple grain colouring are not inferior in quality to the standard, differing from it by two alleles of high-molecular glutenins, affecting the stability of manifestation of baking qualities by year. The quality of the grain is highly dependent on the meteorological conditions of the growing season. All the studied varieties of spring wheat with a purple grain colouring are able to form a grain suitable for baking in the conditions of the Non-Chernozem zone. The quantitative protein and crude gluten content in grain varies by year, but is not inferior to the standard. The quality of gluten varied within groups I and II. At the same time, the gluten was stronger under drought conditions. All varieties showed a high potential of bread volume yield – at or above the standard. The low score of the general bakery evaluation is explained by inclusions of purple bran particles, which caused a darker colouring of the crumb. The positive correlation between the volume yield of bread and the protein content was stronger in the year with reduced protein content in grain.*

**Key words:** *spring wheat, functional nutrition, purple grain coloring, anthocyanins, antioxidants, varieties, bakery evaluation, gluten compositions*

## References

1. *Abdel'kavi R.N., Shhuklina O.A., Ermolenko O.I., Solov'ev A.A.* Stabil'nost' i plastichnost' genotipov yarovoy tritikale po urozhaynosti i kachestvu zerna [Stability and plasticity of spring triticale genotypes in terms of grain yield and quality]. *Agrarniy nauchniy zhurnal*. 2020; 4: 4–9. (In Rus.)
2. *Vasilova N.Z., Askhadullin D.F., Bagavieva E.Z.* Fioletovozerniy sort yarovoy myagkoy pshenitsy Nadira [Violet-black variety of spring soft wheat Nadira]. *Zernobobovye i krupyanye kul'tury*. 2021; 4 (40): 66–75. (In Rus.)
3. *Voronchikhina I.N., Voronchikhin V.V., Rubets V.S., Pylnev V.V., Klepikova A.S.* Otsenka kolleksii yarovoy myagkoy pshenitsy v usloviyakh Tsentral'nogo rayona Nechernozemnoy zony Rossii [Evaluation of the collection of spring bread wheat in the conditions of the Central region of the Non-Chernozem zone of Russia]. *Agrarniy nauchniy zhurnal*. 2021; (8): 13–18. (In Rus.)
4. *Voronchikhina I.N.* Kompleksnaya otsenka kolleksii myagkoy yarovoy pshenitsy v usloviyakh Tsentral'nogo rayona Nechernozemnoy zony Rossii [Comprehensive evaluation of the collection of soft spring wheat in the conditions of the Central region of the Non-Chernozem zone of Russia]. PhD (Bio) thesis. Moscow, 2022: 298. (In Rus.)
5. *Goncharov N.P.* Sravnitel'naya genetika pshenits i ikh sorodichey [Comparative genetics of wheat and their relatives]. 2<sup>nd</sup> edition revised and enlarged. Ros. akad. nauk. Sib. otd-nie, In-t tsitologii i genetiki. Novosibirsk: Akademicheskoe iz-vo "Geo", 2012: 523. (In Rus.)
6. Gosudarstvenniy reestr selektsionnykh dostizheniy, dopushchennykh k ispol'zovaniyu. T.I. "Sorta rasteniy" (ofi tsial'noe izdanie) [State register of selection achievements approved for use. V.I. "Varieties of Plants" (official edition)]. M.: FGBNU "Rosinformagrotekh", 2022: 719. (In Rus.)
7. *Dospekhov B.D.* Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy) [Field experiment technique (with the basics of statistical processing of research results)]. M.: Al'yans, 2014: 351. (In Rus.)
8. *Koz'mina N.P., Gun'kin V.A., Suslyanok G.M.* Teoreticheskie osnovy progressivnykh tekhnologiy (Biotekhnologiya). *Zernovedenie (s osnovami biokhimii rasteniy)* [Theoretical foundations of progressive technologies (Biotechnology). Grain science (with the basics of plant biochemistry)]. M.: Kolos, 2006: 464. (In Rus.)
9. *Fedin M.A. et al.* Metodika gosudarstvennogo sortoispytaniya sel'skokhozyaystvennykh kul'tur. *Tekhnologicheskaya otsenka zernovykh, krupyanykh i zernobobovykh kul'tur* [Methodology for state variety testing of agricultural crops. Technological evaluation of cereals, cereals and leguminous crops]. Moscow, 1988: 122. (In Rus.)
10. *Nosatovskiy A.I.* Pshenitsa. *Biologiya* [Wheat. Biology]. M.: Gosudarstvennoe izd-vo sel'skokhozyaystvennoy literatury, 1965: 407. (In Rus.)
11. *Polonskiy V.I., Loskutov I.G.* Seleksiya na sodержanie antioksidantov v zerne kak perspektivnoe napravlenie dlya polucheniya produktov zdorovogo pitaniya [Selection for antioxidant content in grain as a promising area for healthy food]. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii*. 2018; 22 (3): 343–352. (In Rus.)
12. *Pylnev V.V. et al.* Praktikum po selektsii i semenovodstvu polevykh kul'tur: Uchebnoe posobie [Workshop on selection and seed production of field crops: Textbook]. SPb.: Izd-vo "Lan", 2022: 448. (In Rus.)
13. *Rubets V.S., Voronchikhina I.N., Igonin V.N., Sidorenko V.S., Voronchikhin V.V.* Charakteristika fioletovozernykh sortov yarovoy myagkoy pshenitsy v usloviyakh tsentral'nogo rayona Nechernozemnoy zony Rossii [Characteristics of violet-bearing varieties of spring

soft wheat in the conditions of the Central region of the Non-Chernozem zone of Russia]. *Mezhdunarodniy sel'skokhozyaystvenniy zhurnal*. 2022; 5: 525–529. (In Rus.)

14. *Gringofa I.G. et al.* Spravochnik agronoma po sel'skokhozyaystvennoy meteorologii. Nechernozemnaya zona Evropeyskoy chasti RFSR [Handbook of an agronomist on agricultural meteorology. Non-Chernozem zone of the European part of the RFSR]. L.: Gidrometeoizdat, 1986: 518 (In Rus.)

15. *Fisenko A.V., Kalmykova L.P., Kuznetsova N.L., Kuzmina N.P., Ermolenko O.I., Upeľnik V.P.* Seleksiya fioletovozernoy myagkoy pshenitsy i ee tekhnologicheskie svoystva [Selection of violet-colored soft wheat and its technological properties]. *Agrarnaya Rossiya*. 2020; 10: 43–48. (In Rus.)

16. *Khlestkina E.K.* Geny, determiniruyushchie okrasku razlichnykh organov pshenitsy [Genes determining the coloration of various organs of wheat]. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii*. 2012; 16 (1): 202–216. (In Rus.)

17. *Branlard G., Dardevet M., Amiour N., Igrejas G.* Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2001; 50: 669–679.

18. *Payne P.I., Nightingale M.A., Krattiger A.F., Holt L.M.* The relationship between HMW glutenin subunits composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1987; 40: 51–65.

19. *Payne P.L., Lawrence G.* Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communications*. 1983; 11: 29–35.

20. *Singh N.K., Shepherd K.W., Langridge P.* Purification and biochemical characterization of triticin, a legumin-like protein in wheat endosperm. *Journal of Cereal Science*. 1991; 13: 207–219.

**Ворончихина Ирина Николаевна**, канд. биол. наук, научный сотрудник отдела отдаленной гибридизации ГБС РАН; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Ботаническая, 4; тел.: (999) 823–06–91; e-mail: yarinkapanfilova@gmail.com

**Сидоренко Владимир Сергеевич**, канд. с.-х. наук, заместитель директора по селекционной работе, Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур; 302502, Российская Федерация, Орловская обл., Орловский р-н, п. Стрелецкий, ул. Молодежная, 10; e-mail: office@vniizbk.orel.ru

**Рубец Валентина Сергеевна**, д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры генетики, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976–12–72; e-mail: Valentina.rubets50@gmail.com

**Пыльнев Владимир Валентинович**, д.б.н., профессор, заведующий кафедрой кафедры генетики, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49, тел.: (499) 976–12–72, e-mail: PYL8@yandex.ru)

**Игонин Владимир Николаевич**, канд. с.-х. наук, доцент кафедры генетики, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976–12–72; e-mail: selection@rgau-msha.ru

**Ворончихин Виктор Викторович**, канд. с.-х. наук, научный сотрудник отдела отдаленной гибридизации ГБС РАН; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Ботаническая 4; тел.: (999) 823–06–91; e-mail: vitya.voronchihin@gmail.com

**Груздев Иван Викторович**, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории маркерной и геномной селекции растений, ФГБНУ «Всероссийский

научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», научный сотрудник отдела отдаленной гибридизации ГБС РАН; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; тел.: (903) 237–59–91; e-mail: gruzdev82mtz@mail.ru

**Irina N. Voronchikhina**, PhD (Bio), Research Associate of the Department of Remote Hybridization, N.V. Tsitsin's Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (4 Botanicheskaya Str., Moscow, 127276, Russian Federation; phone: (499) 823–06–91; E-mail: yarinkapanfilova@gmail.com)

**Vladimir S. Sidorenko**, PhD (Ag), Deputy Director for Breeding, Federal Scientific Center for Legumes and Cereals (10 Molodezhnaya Str., Streletski village, Oryol district, Oryol region, 302502, Russian Federation; E-mail: office@vniizbk.orel.ru)

**Valentina S. Rubets**, DSc (Bio), Professor, Professor of the Department of Genetics, Plant Breeding and Seed Production, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–12–72; E-mail: Valentina.rubets50@gmail.com)

**Vladimir V. Pylnev**, DSc (Bio), Professor, Head of the Department of Genetics, Plant Breeding and Seed Production, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–12–72; E-mail: PYL8@yandex.ru)

**Vladimir N. Igonin**, PhD (Ag), Associate Professor of the Department of Genetics, Plant Breeding and Seed Production, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–12–72; E-mail: selection@rgau-msha.ru)

**Viktor V. Voronchikhin**, PhD (Ag), Research Associate of the Department of Remote Hybridization, N.V. Tsitsin's Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (4 Botanicheskaya Str., Moscow, 127276, Russian Federation; phone: (999) 823–06–91; E-mail: vitya.voronchihin@gmail.com)

**Ivan V. Gruzdev**, PhD (Bio), Research Associate of the Laboratory of Marker-Assisted and Genomic Selection of Plants, All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology; Research Associate of the Department of Remote Hybridization, N.V. 's Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (903) 237–59–91; E-mail: gruzdev82mtz@mail.ru)

## СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И АДАПТИВНОСТЬ СОРТОВ ЛЮПИНА БЕЛОГО В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНО-ЧЕРНОЗЕМНОГО РЕГИОНА

Г.Г. ГАТАУЛИНА, А.В. ШИТИКОВА, Н.В. МЕДВЕДЕВА

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева)

*В полевых опытах в течение 4-х лет (2019–2022 гг.) в условиях северной части Центрально-Чернозёмного региона определены и представлены в статье компоненты продуктивности у разнотипных сортов белого люпина (*Lupinus albus* L.). Изучались сорта Дега, Дельта, Старт, Мановицкий, Тимирязевский и Гана селекции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Возделывание урожайных и высокобелковых сортов белого люпина позволяет увеличить производство растительного белка до 15 ц/га (с аналогичным урожаем у зерновых культур сбор белка в 4 раза меньше). Благодаря азотфиксации возможно его производство без затрат дорогостоящих азотных удобрений, что выгодно также в энергетическом и экологическом аспектах. Кроме того, белый люпин способен усваивать труднорастворимые фосфаты почвы. Определено влияние стрессовых факторов, связанных с изменением погоды на разных этапах вегетации, на варибельность параметров семенной продуктивности растений. Созданные в РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева сорта белого люпина с детерминантным типом роста характеризовались высоким уровнем адаптационного потенциала к дефициту влаги (засуха) и тепловому стрессу (Heat stress). Биологическая урожайность сортов была высокой, в среднем по сортам она составила в 2019, 2020, 2021 и 2022 гг. соответственно 529, 573, 483, 564 г/м<sup>2</sup>. Доля главного побега в урожайности семян по годам составила 85, 74, 78, 88%. Коэффициент вариации на главном побеге, V%, в среднем по сортам составил 4,9%, по годам – 11,8%. На боковых побегах он был в 3 раза выше.*

**Ключевые слова:** сорта люпина белого (*Lupinus albus* L), рост и развитие, периоды формирования урожая, элементы структуры урожая, погода и стрессовые факторы, варибельность.

### Введение

Проблема дефицита растительного белка для использования в животноводстве, производстве комбикормов, в пищевой и перерабатывающей промышленности отмечается во многих странах мира, в том числе в странах Общего рынка – US [2, 15, 19]. Белковая зависимость от стран, в которых сосредоточено 75–80% мирового производства сои (США, Бразилия, Аргентина), определяет актуальность решения проблемы: производить или импортировать?

Проведенные исследования выявили ряд аспектов производства зернобобовых культур в Европе с позиций устойчивости и экологической безопасности земледелия. Исследователи обращают внимание на люпин как альтернативу сое [2, 12, 13, 16]. Преимущества люпина белого в сравнении с соей и другими видами люпина при возделывании в Центрально-Чернозёмном регионе России освещались ранее [3].

В ряде обзорных статей рассматриваются современные вызовы, связанные с формированием и использованием исходного материала в селекции зернобобовых культур и требований к качеству зерновой продукции [4, 5, 11, 16].

В исследованиях отмечается высокая варибельность урожайности у зернобобовых культур. Они на разных этапах онтогенеза весьма чувствительны к изменениям окружающей среды, что определяется биологическими особенностями вида

и сорта, а также специфическими требованиями для успешного симбиоза с бактериями, образующими клубеньки на корнях растений [1, 5, 6, 11].

Изменение климата и влияние абиотических стрессовых факторов на формирование урожая обсуждаются в ряде работ. В числе основных абиотических стрессоров отмечают засуху (drought, water stress) и тепловой стресс (heat stress) [1, 3, 7, 8, 10, 14].

На фоне современных вызовов адаптивная селекция сортов люпина белого (*Lupinus albus L.*) на устойчивость к абиотическим стрессорам в условиях Центрально-Чернозёмного региона является актуальной и практически значимой.

**Цель исследований:** определить влияние стрессовых факторов, связанных с изменением погоды на разных этапах вегетации, на вариабельность компонентов семенной продуктивности сортов люпина белого с детерминантным типом роста.

*Работы выполнены при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075–15–2022–317 от 20 апреля 2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».*

### Материал и методика исследований

Изучение действия стрессовых и других лимитирующих факторов на формирование элементов продуктивности у сортов белого люпина проводилось в условиях полевого опыта в течение четырех лет (2019–2022 гг.) на экспериментальном участке в учхозе (Тамбовская область, Мичуринский район) при четырехкратной повторности. Площадь опытной делянки составляла 15 м<sup>2</sup>. Почвы – выщелоченный чернозем средней мощности, рН<sub>сол.</sub> – 5,7–5,9. Содержание в почве P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>–94–98 мг, K<sub>2</sub>O – 210–220 мг в 1 кг почвы. Срок посева – оптимально ранний, обычно в конце апреля. Способ посева – широкорядный с междурядьями 45 см и нормой высева 500 тыс/га всхожих семян (50 семян/м<sup>2</sup>). Проводили фенологические наблюдения, определяли продолжительность вегетации и межфазных периодов, число бобов, семян и массу семян на главном и боковых побегах. Элементы продуктивности представлены, как и урожайность, в расчете на единицу площади.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel. Вариабельность показателей формирования урожая оценивали по коэффициенту вариации V%. Коэффициент вариации определяли как отношение, выраженное в процентах, среднеквадратического отклонения (в статье – сигма) к средней оцениваемого показателя.

### Результаты и их обсуждение

*Метеорологические условия вегетационного периода и их влияние на развитие растений.* В условиях 2019 г. посев провели 24–25 апреля, всходы появились 8–9 мая. В первой половине месяца прошли дожди. В период вегетативного роста от всходов до начала цветения продолжительностью 35 дней (период I) растения не испытывали дефицита влаги. В июне отмечена засуха, что совпало с критическим периодом формирования урожая белого люпина (период II – цветение и образование плодов). В этих условиях все сорта в дальнейшем развивались по типу скороспелых, побеги выше II порядка не формировались. Продолжительность цветения в связи с засухой составила всего 14–16 дней, в благоприятные годы – 25–30 дней.

Кроме того, в начале июня растения испытывали сильный перегрев (heat stress) ввиду аномально жаркой погоды с дневной температурой 40 °С. Июль был дождливым и холодным, осадков выпало больше нормы, а температура была на 4 °С ниже. Обилие влаги уже не могло положительно повлиять на число бобов на растениях. Пониженная

температура способствовала увеличению длительности периодов роста бобов и налива семян (периоды III–IV). В 2019 г. сформировались наиболее крупные семена.

В период от всходов до начала цветения в условиях 2020 г. среднесуточная температура оказалась на 2–4 °С ниже нормы. В результате период «Всходы – начало цветения» (период I) увеличился на 5–6 дней. Общая продолжительность периода цветения и образования бобов составила 23 дня. В это время в течение 14 дней стояла жаркая и сухая погода без осадков. Дневная температура превысила норму на 5–6 °С, что вызвало перегрев растений – тепловой стресс (heat stress).

Угнетение вегетативного роста в критический для развития растений период и стрессовые условия определили дальнейшее развитие всех сортов, особенно формирующих побеги II–IV порядков, по типу скороспелых, с ограничением ветвления. Осадки после периода засухи способствовали сохранению завязавшихся бобов на главном и побегах I порядка. Налив и созревание семян проходили в ускоренном режиме при теплой и сухой погоде в августе.

В 2021 г. посев проведен в обычные сроки (30 апреля), всходы появились 10 мая. Период от всходов до начала цветения составил 35–37 дней. В этот период вегетативного роста растения развивались нормально, не испытывая недостатка влаги. Однако в последующий период установилась аномально жаркая и сухая погода с температурой 32–35 °С и без осадков. В дальнейшем развитие растений всех сортов происходило по типу скороспелых форм. Завершение цветения отмечено 3–4 июля, период цветения и образования плодов (бобов) на растениях сократился до 2-х недель. 28 июня выпала почти месячная норма осадков. Эти осадки уже не могли повлиять на количество завязавшихся плодов. В июле также была жаркая и сухая погода, что еще более ускорило развитие растений. Уборочная спелость всех сортов отмечена 10–15 августа – на месяц раньше, чем по многолетним наблюдениям.

Посев в 2022 г. проведен позже, чем в другие годы (7 мая), – ввиду пониженной температуры в апреле почва медленно прогревалась. Фаза полных всходов отмечена через 11 дней после посева. От всходов до начала цветения (35–37 дней) растения развивались нормально, не испытывая недостатка влаги. В последующий период в июле установилась аномально жаркая и сухая погода с температурой 30–35 °С без осадков, что оказало сильное влияние на ростовые процессы и развитие растений. У растений всех сортов прекратилось образование боковых побегов выше первого порядка. Такая погода определила более быстрое наступление последующих фаз, и все сорта развивались по типу скороспелых. Августовская жара ускорила процесс созревания. Уборочная спелость всех сортов отмечена 10–15 августа.

Таким образом, в 2019–2022 гг. стрессовые погодные условия на различных этапах вегетации оказывали сильное влияние на развитие растений, продолжительность отдельных периодов, величину элементов продуктивности на главном и боковых побегах растений.

*Величина и вариабельность элементов структуры урожая.* Густота стояния растений перед уборкой составляла 44–46 растений на 1 м<sup>2</sup>. Наибольшее количество бобов за вегетацию обычно отмечается в конце периода II «Цветение и образование бобов». Этот показатель может быть прогностическим в определении планируемой урожайности. Урожайность зависит от числа бобов на 1 м<sup>2</sup>, сформировавшихся и сохранившихся на растениях к уборке (табл. 1).

В 2020 и 2022 гг. бобов на главном побеге (на 1 м<sup>2</sup>) образовалось на 23–32% больше, чем в 2019 и 2021 гг. В среднем по сортам доля бобов с главного побега составила в 2019 г. 78%, в 2020 г. – 68%, в 2021 г. – 64%, в 2022 г. – 83%. Коэффициент вариации, показывающий степень влияния погодных условий на количество бобов на главном побеге, в 2,9 раза больше среднего V% по сортам. На боковых побегах V% как по сортам, так и по годам, больше, чем на главном побеге. Доля семян на главном побеге выше, чем бобов (табл. 2).

Таблица 1

**Количество бобов на 1 м<sup>2</sup>**

Год	Дега	Дельта	Тимирязевский	Гана	Мановицкий	Старт	Среднее по сортам	Сигма	V%
Главный побег									
2019	264	260	260	272	300	240	266	19,7	7,4
2020	302	338	315	320	347	342	327	17,7	5,4
2021	260	275	280	257	305	260	273	18,3	6,7
2022	355	340	360	335	320	315	338	18,1	5,4
Средн.	295	303	304	296	318	289	301	10,0	3,3
Сигма	44,1	41,7	43,9	37,4	21,1	47,4	36,7		
V%	14,94	13,76	14,44	12,63	6,64	16,37	12,20		
Боковые побеги									
2019	76	40	64	88	120	60	75	27,4	36,8
2020	126	167	189	221	131	90	154	47,5	30,9
2021	126	140	150	194	130	160	150	22,8	15,2
2022	63	72	68	45	67	55	62	10,0	16,2
Средн.	98	104	127	155	126	75	114	27,7	24,2
Сигма	35,4	89,8	88,4	94,0	7,8	21,2	56,1		
V%	36,2	86,8	69,9	60,9	6,2	28,3	49,1		
Всего на растениях									
2019	340	300	324	360	420	300	341	45,3	13,3
2020	428	504	504	540	477	432	481	44,2	9,2
2021	386	415	431	451	465	420	428	27,9	6,5
2022	421	412	428	410	387	390	408	16,5	4,0
Средн.	384	402	414	450	449	366	411	34,0	8,3
Сигма	62,2	144,2	127,3	127,3	40,3	93,3	99,1		
V%	16,2	35,9	30,7	28,3	9,0	25,5	24,1		

**Примечание.** В этой и последующих таблицах: сигма – стандартное отклонение; V% – коэффициент вариации.

В 2019 г. удельный вес семян с главного побега в среднем по сортам составил 85%, то есть на 7% больше, чем доля бобов; в 2020 г. – 74% (на 6% больше); в 2021 г. – 78% (на 12% больше); в 2022 г. – 88% (на 5% больше). При меньшем количестве бобов на растениях

перед уборкой увеличивалось число семян в каждом бобе. Коэффициент вариации семян с боковых побегов по сортам и по годам в 3–4 раза выше, чем для семян с главного побега.

Таблица 2

**Количество семян на 1 м<sup>2</sup>**

Год	Дега	Дельта	Тимирязевский	Гана	Мановицкий	Старт	Среднее по сортам	Сигма	V%
Главный побег									
2019	928	952	920	1008	1124	936	978	78,1	8,0
2020	1103	1301	1265	1166	1395	1337	1261	108,9	8,6
2021	1116	1160	1233	1157	1125	1156	1158	41,2	3,6
2022	1368	1292	1337	1332	1247	1202	1296	62,3	4,8
Средн.	1016	1127	1093	1087	1260	1137	1120	80,7	7,2
Сигма	163	184	132	129	167	143			
V%	16,0	16,4	12,1	11,8	13,2	12,6			
Боковые побеги									
2019	176	52	180	224	272	104	168	80	47,4
2020	230	414	536	563	369	185	383	155	40,4
2021	302	355	400	522	324	495	400	91	22,7
2022	171	198	130	112	135	184	155	34	22,0
Средн.	220	255	312	355	275	242	276	50	18,0
Сигма	61	163	190	222	101	173	152		
V%	27,8	64,0	61,0	62,4	36,9	71,4	53,9		
Всего на растениях									
2019	1104	1004	1100	1232	1396	1040	1146	145,0	12,7
2020	1715	1800	1728	1764	1521	1758	1714	97,5	5,7
2021	1418	1515	1233	1679	1449	1651	1491	90,3	6,1
2022	1539	1490	1567	1444	1382	1386	1468	105,9	7,2
Средн.	1444	1452	1407	1530	1437	1459	1455	109,7	7,5
Сигма	257	330	290	240	63	320	250		
V%	17,8	22,7	20,6	15,7	4,4	21,9	17,2		

Изменение массы 1000 семян по годам и по сортам представлено в таблице 3.

Этот показатель в зависимости от сорта и погодных условий года варьировал на главном побеге от 490 г в 2019 г. до 318 г в 2020 г. В условиях 2019 г. сложились

благоприятные погодные условия в период налива семян. Масса 1000 семян в 2019 г. в среднем по сортам оказалась необычайно высокой – на 30% выше по сравнению с другими годами. Масса 1000 семян на боковых побегах всегда меньше, чем на главном, в данном исследовании в среднем по сортам – на 15%.

Таблица 3

**Масса 1000 семян, г**

Год	Дега	Дельта	Тимирязевский	Гана	Мановицкий	Старт	Среднее по сортам	Сигма	∇%
Главный побег									
2019	414	458	420	468	491	479	455	31,5	6,9
2020	318	362	345	362	340	362	348	17,7	5,1
2021	325	341	325	323	336	338	331	7,9	2,4
2022	382	418	384	362	397	404	391	19,5	5,0
Средн.	360	395	369	379	391	396	381	19,1	4,8
Сигма	46,1	53,2	42,2	62,3	72,3	61,8	55,1		
∇%	12,8	13,5	11,4	16,4	18,5	15,6	14,5		
Боковые побеги									
2019	364	385	422	411	426	369	396	27,1	6,8
2020	268	300	315	287	305	292	295	16,3	5,5
2021	267	291	303	259	305	286	285	18,8	6,6
2022	342	363	300	320	333	285	324	28,4	8,8
Средн.	310	335	335	319	342	308	325	22,6	6,9
Сигма	50,2	46,3	58,4	66,1	57,4	40,8	50,3		
∇%	16,2	13,8	17,4	20,7	16,8	13,2	15,5		
Всего на растениях									
2019	412	454	462	459	479	508	462	31,6	6,8
2020	304	348	337	338	331	358	336	18,3	5,5
2021	315	329	320	302	329	322	320	10,1	3,2
2022	382	418	384	362	397	404	391	19,5	5,0
Средн.	353	387	376	365	384	398	377	16,1	4,3
Сигма	52,2	58,7	63,6	67,2	70,8	80,6	64,5		
∇%	14,8	15,2	16,9	18,4	18,4	20,3	17,1		

Из данных таблицы 4 следует, что семенная продуктивность сортов белого люпина, несмотря на стрессовые погодные условия, поддерживалась на высоком уровне. В среднем за годы исследования по сортам она составила 537 г/м<sup>2</sup>, в том числе семена с главного побега – 446 г/м<sup>2</sup> (4,46 т/га). Коэффициент вариации на главном побеге в среднем по годам составил 11,8%, по сортам – 4,9%. На боковых побегах он был в 3,1–3,3 раза выше.

Таблица 4

**Биологическая урожайность семян, г/м<sup>2</sup>**

Год	Дега	Дельта	Тимирязевский	Гана	Мановицкий	Старт	Среднее по сортам	Сигма	V%
Главный побег									
2019	384	436	432	472	552	448	454	56,0	12,3
2020	369	473	441	423	473	491	445	44,6	10,0
2021	365	396	401	369	378	360	378	16,9	4,5
2022	522	540	513	482	495	486	506	22,6	4,5
Средн.	410	461	447	437	475	446	446	22,1	4,9
Сигма	75,1	61,2	47,4	51,9	72,4	60,6	52,6		
V%	18,3	13,3	10,6	11,9	15,3	13,6	11,8		
Боковые побеги									
2019	64	20	76	92	116	80	75	32,1	42,9
2020	131	135	171	162	113	54	128	41,9	32,8
2021	81	104	122	135	99	85	104	21,0	20,1
2022	58	72	41	45	45	54	53	11,5	21,8
Средн.	84	83	103	109	93	68	90	14,7	16,3
Сигма	33,1	49,1	56,4	51,2	33,0	16,6	33,1		
V%	39,7	59,3	55,1	47,2	35,4	24,3	36,9		
Всего на растениях									
2019	448	456	508	564	668	528	529	81,1	15,3
2020	500	608	612	585	585	545	573	42,8	7,5
2021	446	500	526	504	477	445	483	32,9	6,8
2022	580	612	554	527	540	570	564	30,5	5,4
Средн.	494	544	550	545	568	522	537	46,8	8,8
Сигма	62,9	78,3	45,5	36,4	80,3	54,2	59,6		
V%	12,7	14,4	8,3	6,7	14,2	10,4	11,1		

В исследованиях 2019–2022 гг. стрессовые погодные условия отмечены в каждом году во второй половине июня, что полностью или частично совпало с критическим для формирования урожая периодом развития растений (период II «Цветение и образование бобов»). В результате растения всех сортов в дальнейшем развивались по типу скороспелых форм и в 2020–2022 гг. созрели в середине августа – на месяц раньше обычного срока.

В 2019 г. пониженная температура и обилие осадков в июле привели к увеличению длительности периодов роста бобов и налива семян (периоды III–IV). В августе погода была близкой к норме. Для налива семян (период IV) сложились благоприятные условия. Масса 1000 семян на 30% превысила этот показатель в другие годы.

Исследования свидетельствуют о высоком адаптационном потенциале сортов люпина белого с детерминантным типом роста при возделывании в Центрально-Черноземном регионе.

### **Выводы**

На основании исследований, проведенных в разных странах с зернобобовыми культурами, установлено, что белый люпин – наиболее перспективное растение как альтернатива сое.

Центрально-Чернозёмный регион – основная зона возделывания (производства) белого люпина. В этом регионе стрессовые погодные условия (засуха, тепловой стресс, быстрое снижение температуры в сентябре в период созревания) часто возникают в течение вегетационного периода.

Созданные в РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева сорта белого люпина с детерминантным типом роста характеризовались высоким уровнем адаптационного потенциала к дефициту влаги (засуха) и тепловому стрессу (heat stress). Биологическая урожайность сортов была высокой: в среднем по сортам она составила в 2019, 2020, 2021 и 2022 гг. соответственно 529, 573, 483, 564 г/м<sup>2</sup>. Доля главного побега в урожайности семян по годам составила 85, 74, 78, 88%. Коэффициент вариации на главном побеге, V%, в среднем по сортам составил 4,9%, по годам – 11,8%. На боковых побегах он был в 3 раза выше.

Зерновая продукция адаптированных сортов люпина белого с детерминантным типом роста используется для решения проблемы дефицита растительного белка, сокращения импорта сои и обеспечения белковой независимости России.

### **Библиографический список**

1. *Гатаулина Г.Г., Медведева Н.В.* Селекционные аспекты variability урожайности и динамических характеристик продукционного процесса у сортов люпина белого // Новые сорта люпина, технология их выращивания и переработки, адаптация в системы земледелия и животноводство: Сборник материалов Международной научно-практической конференции, посвященной 30-летию со дня основания Всероссийского научно-исследовательского института люпина, Брянск, 4 июля 2017 г. – Брянск: ЗАО Издательство «Читай-город», 2017. – С. 23–37.

2. *Гатаулина Г.Г., Медведева Н.В., Шитикова А.В.* Люпин белый (*Lupinus albus* L.) – альтернатива сое: новый сорт Тимирязевский // Кормопроизводство. – 2020. – № 1. – С. 36–40.

3. *Гатаулина Г.Г., Шитикова А.В., Медведева Н.В.* Влияние стрессовых погодных условий на разных этапах вегетации на формирование элементов продуктивности

у сортов люпина белого (*Lupinus albus* L.) селекции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева // Известия ТСХА. – 2021. – № 5. – С. 65–76.

4. Развитие производства зернобобовых и крупяных культур в России на основе использования селекционных достижений / В.И. Зотиков, А.А. Полухин, Н.В. Грядунова и др. // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2020. – № 4 (36). – С. 5–17.

5. *Abraham E.M., Ganopoulos I., Madesis P., Mavromatis A., Mylona P., Nianiou-Obeidat I., Vlachostergios D.* The use of lupin as a source of protein in animal feeding: Genomic tools and breeding approaches // International journal of molecular sciences. – 2019. – Т. 20, № 4. – P. 851.

6. *Annicchiarico P., Boschini G., Manunza P., Arnoldi A.* Quality of *Lupinus albus* L. (white lupin) seed: extent of genotypic and environmental effects // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2014. – № 62. – Pp. 6539–6545.

7. *Bhandari K., Siddique K.H., Turner N.C., Kaur J., Singh S., Agrawal S.K., Nayyar H.* Heat stress at reproductive stage disrupts leaf carbohydrate metabolism, impairs reproductive function, and severely reduces seed yield in lentil // Journal of Crop Improvement. – 2016. – № 30. – Pp. 118–151.

8. *Bishop J., Potts S.G., Jones H.E.* (2016) Susceptibility of faba bean (*Vicia faba* L.) to heat stress during floral development and anthesis // Journal of Agronomy & Crop Science. – 2016. – № 202. – Pp. 508–517.

9. *Cernay C., Ben-Ari T., Pelzer E., Meynard J. – M. and Makowski D.* (2015). Estimating variability in grain legume yields across Europe and the Americas // Sci. Rep. – 2015. – № 5. – P. 11171.

10. *Devasirvatham V., Tan D.K., Gaur P.M., Trethowan R.M.* Chickpea and temperature stress. An overview // In 'Legumes under environmental stress: yield, improvement and adaptations' (Eds M.M. Azooz, P. Ahmad). – 2015. – Pp. 97–106. (Wiley-Blackwell: Welwyn, UK).

11. Gérard Duc, Hesham Agrama, Shiyong Bao, Jens Berger, Virginie Bourion, Antonio M. De Ron, Cholenahalli L.L. Gowda, Aleksandar Mikic, Dominique Millot, Karam B. Singh, Abebe Tullu, Albert Vandenberg, Maria C. Vaz Patto, Thomas D. Warkentin & Xuxiao Zong. Breeding Annual Grain Legumes for Sustainable Agriculture: New Methods to Approach Complex Traits and Target New Cultivar Ideotypes, Critical Reviews in Plant Sciences. – 2015. – 34:1–3. – Pp. 381–411.

12. Legume Futures 2014. Legume-supported cropping systems for Europe. General project report. Available at [www.legumefutures.de](http://www.legumefutures.de).

13. *Lucas M.M., Stoddard F.L., Annicchiarico P., Frías J., Martínez-Villaluenga C., Sussmann D., Duranti M., Seger A., Zander P.M. and Pueyo J.J.* The future of lupin as a protein crop in Europe // Front. Plant Sci. – 2015. – 6:705.

14. *Ozga J.A., Kaur H., Savada R.P., Reinecke D.M.* Hormonal regulation of reproductive growth under normal and heat-stress conditions in legume and other model crop species // Journal of Experimental Botany. – 2016. – № 68. – Pp. 1885–1894.

15. *Redden R.J., Hatfield P.V., Prasad V., Ebert A.W., Yadav S.S., O'Leary G.J.* (2014) Temperature, climate change, and global food security // Temperature and Plant Development. – 2014. – № 8. – Pp. 181–202.

16. de Visser C.L.M., Schreuder R. and Stoddard F.L. The EU's dependency on soya bean import for the animal feed industry and potential for EU produced alternatives. – 2014. – OCL 21, D407.

# SEED PRODUCTIVITY AND ADAPTABILITY OF VARIETIES OF WHITE LUPIN IN THE CONDITIONS OF THE CENTRAL CHERNOZEM ZONE

G.G. GATAULINA, A.V. SHITIKOVA, N.V. MEDVEDEVA

(Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

*In field experiments for four years (2019–2022) in the conditions of the northern part of the Central Chernozem region, the productivity components of different varieties of white lupin (*Lupinus albus* L.) were determined and presented in the article Dega, Delta, Start, Manovitsky, Timiryazevsky and Gana, the varieties of breeding of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, were studied. Cultivation of high-yielding and high-protein varieties of white lupin increases the production of vegetable protein up to 15 c/ha (with a similar yield in grain crops, the protein harvest is four times lower). Thanks to nitrogen fixation, its production is possible without the cost of expensive nitrogen fertilizers, which is also beneficial in energy and environmental aspects. In addition, white lupin is able to assimilate phosphates that are difficult to dissolve. The influence of stress factors related to weather changes at different stages of vegetation on the variability of plant seed productivity parameters has been determined. The varieties of white lupine with determinant type of growth bred in Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy were characterized by a high level of adaptive potential to moisture deficiency (drought) and heat stress. The biological yield of the varieties was high, averaging 529, 573, 483, 564 g/m<sup>2</sup> in 2019, 2020, 2021 and 2022, respectively. The share of the main stem in seed yield by year was 85, 74, 78, 88%. The coefficient of variation on the main shoot (V%) averaged 4.9% in varieties, 11.8% in years. On lateral shoots it was three times higher.*

**Key words:** varieties of white lupin (*Lupinus albus* L), growth and development, periods of yield formation, elements of crop structure, weather and stress factors, variability.

## References

1. Gataulina G.G., Medvedeva N.V. Selektсионnye aspekty variabel'nosti urozhaynosti i dinamicheskikh kharakteristik produktsionnogo protsessu u sortov lyupina belogo [Breeding aspects of yield variability and dynamic characteristics of the production process in varieties of white lupin]. Novye sorta lyupina, tekhnologiya ikh vyrashchivaniya i pererabotki, adaptatsiya v sistemy zemledeliya i zhivotnovodstvo: Sbornik materialov Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchenoy 30-letiyu so dnya osnovaniya Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lyupina, Bryansk, 04 iyulya 2017 goda. Bryansk: ZAO "Izdatel'stvo" Chitay-gorod". 2017: 23–37. (In Rus.)
2. Gataulina G.G., Medvedeva N.V., Shitikova A.V. Lyupin beliy (*Lupinus albus* L.) – al'ternativa soe: noviy sort Timiryazevskiy [White lupine (*Lupinus albus* L.) – an alternative to soy: a new variety Timiryazevsky]. Kormoproizvodstvo. 2020; 1: 36–40. (In Rus.)
3. Gataulina G.G., Shitikova A.V., Medvedeva N.V. Vliyaniye stressovykh pogodnykh usloviy na raznykh etapakh vegetatsii na formirovaniye elementov produktivnosti u sortov lyupina belogo (*Lupinus albus* L.) selektsii RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva [The influence of stressful weather conditions at different stages of vegetation on the formation of productivity elements in varieties of white lupine (*Lupinus albus* L.) bred by RGAU-MSHA named after K.A. Timiryazev]. Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii. 2021; 5: 65–76. DOI: 10.26897/0021–342X-2021–5–65–76 (In Rus.)
4. Zotikov V.I., Polukhin A.A., Gryadunova N.V. et al. Razvitiye proizvodstva zernobovyykh i krupyanykh kul'tur v Rossii na osnove ispol'zovaniya selektsionnykh

dostizheniy [Development of the production of leguminous and cereal crops in Russia based on the use of breeding achievements]. *Zernobobovye i krupyanye kul'tury*. 2020; 4 (36): 5–17. DOI: 10.24411/2309–348X-2020–11198 (In Rus.)

5. *Abraham E.M., Ganopoulos I., Madesis P., Mavromatis A., Mylona P., Nianiou-Obedat I., Vlachostergios D.* The use of lupin as a source of protein in animal feeding: Genomic tools and breeding approaches. *International journal of molecular sciences*. 2019; 20 (4): 851.

6. *Annicchiarico P., Boschini G., Manunza P., Arnoldi A.* Quality of *Lupinus albus* L. (white lupin) seed: extent of genotypic and environmental effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014; 62: 6539–6545.

7. *Bhandari K, Siddique K.H, Turner N.C, Kaur J, Singh S, Agrawal S.K, Nayyar H.* Heat stress at reproductive stage disrupts leaf carbohydrate metabolism, impairs reproductive function, and severely reduces seed yield in lentil. *Journal of Crop Improvement*. 2016; 30: 118–151.

8. *Bishop J, Potts S.G, Jones H.E.* Susceptibility of faba bean (*Vicia faba* L.) to heat stress during floral development and anthesis. *Journal of Agronomy & Crop Science*. 2016; 202: 508–517.

9. *Cernay C., Ben-Ari T., Pelzer E., Meynard J. – M., Makowski D.* Estimating variability in grain legume yields across Europe and the Americas. *Sci. Rep.* 2015; 5: 11171. DOI: 10.1038/srep11171

10. *Devasirvatham V, Tan D.K., Gaur P.M., Trethowan R.M.* Chickpea and temperature stress. An overview. In “Legumes under environmental stress: yield, improvement and adaptations”. Ed. by Azooz M.M., Ahmad P. Wiley-Blackwell: Welwyn, UK. 2015: 97–106.

11. *Gérard Duc, Hesham Agrama, Shiyang Bao, Jens Berger, Virginie Bourion, Antonio M. De Ron, Cholenahalli L.L. Gowda Aleksandar Mikic, Dominique Millot, Karan B. Singh, Abebe Tullu, Albert Vandenberg, Maria C. Vaz Patto, Thomas D. Warkentin, Xuxiao Zong* Breeding Annual Grain Legumes for Sustainable Agriculture: New Methods to Approach Complex Traits and Target New Cultivar Ideotypes. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2015; 34 (1–3): 381–411.

12. Legume Futures 2014. Legume-supported cropping systems for Europe. General project report. [Electronic source]. URL: [www.legumefutures.de](http://www.legumefutures.de)

13. *Lucas M.M., Stoddard F.L., Annicchiarico P., Frías J., Martínez-Villaluenga C., Sussmann D., Duranti M., Seger A., Zander P.M., Pueyo J.J.* The future of lupin as a protein crop in Europe. *Front. Plant Sci.* 2015; 6: 705. DOI: 10.3389/fpls.2015.00705

14. *Ozga J.A., Kaur H., Savada R.P., Reinecke D.M.* Hormonal regulation of reproductive growth under normal and heat-stress conditions in legume and other model crop species. *Journal of Experimental Botany*. 2016; 68: 1885–1894.

15. *Redden R.J., Hatfield P.V., Prasad V., Ebert A.W., Yadav S.S., O’Leary G.J.* Temperature, climate change, and global food security. *Temperature and Plant Development*. 2014; 8: 181–202.

16. *De Visser C.L.M., Schreuder R., Stoddard F.L.* The EU’s dependency on soya bean import for the animal feed industry and potential for EU produced alternatives. July 2014, OCL 21(4): D407. DOI: 10.1051/ocl/2014021

**Гатаулина Галина Глебовна**, профессор кафедры растениеводства и луговых экосистем ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», д-р с.-х. наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное общеобразовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127422, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: ggataulina@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976–18–18

**Шитикова Александра Васильевна**, заведующий кафедрой растениеводства и луговых экосистем ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», д-р с.-х. наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное общеобразовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: plant@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976–13–75

**Медведева Наталия Викторовна**, ведущий научный сотрудник Центра зерновых бобовых культур и производства растительного белка ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», канд. с.-х. наук, Федеральное государственное бюджетное общеобразовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: plant@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976–13–75

**Galina G. Gataulina**, DSc (Ag), Professor, Professor of the Department of Plant Growing and Meadow Ecosystems, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–18–18; E-mail: ggataulina@rgau-msha.ru)

**Aleksandra V. Shitikova**, DSc (Ag), Professor, Head of the Department of Plant Growing and Meadow Ecosystems, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–13–75; E-mail: plant@rgau-msha.ru)

**Nataliya V. Medvedeva**, PhD (Ag), Leading Research Associate of the Center for Grain Legumes and Vegetable Protein Production, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–13–75; E-mail: plant@rgau-msha.ru)

## КОНКУРЕНТНАЯ АЛЛЕЛЬ-СПЕЦИФИЧНАЯ ПЦР (KASP): ОСОБЕННОСТИ, ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Е.А. НИКИТИНА<sup>1</sup>, А.В. АРХИПОВ<sup>1</sup>, Я.В. МИНЬКОВА<sup>1</sup>,  
А.С. ЯНОВСКИЙ<sup>2</sup>, В.А. КОРОБКОВА<sup>1</sup>, М.А. САМАРИНА<sup>1,3</sup>,  
А.Г. ЧЕРНООК<sup>1</sup>, П.Ю. КРУПИН<sup>1</sup>, Г.И. КАРЛОВ<sup>1</sup>, М.Г. ДИВАШУК<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup> ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной биотехнологии»

<sup>2</sup> ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко»

<sup>3</sup> Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева)

*Использование конкурентной аллель-специфичной ПЦР становится популярным методом для массового генотипирования сельскохозяйственных культур. Разработка маркеров на SNP в полиплоидных организмах требует дополнительной проверки и тестирования при разработке праймеров для дальнейшего использования. Предлагается алгоритм проверки и интерпретации работоспособности KASP-маркеров на пшенице с помощью существующих геномных сборок мягкой пшеницы. С помощью описанного алгоритма было проанализировано 6 KASP-маркеров на гены VIVIPAROUS-1, MOTHER OF FT AND TFL1, TGW6-A1, PSY-A1, DreB-B1 и локус устойчивости к листовой ржавчине Lr14a. Наиболее перспективными KASP-маркерами по результатам биоинформатического анализа и ПЦР оказались маркеры на гены VIVIPAROUS-1, MOTHER OF FT AND TFL1.*

**Ключевые слова:** KASP, твердая пшеница, мягкая пшеница, выравнивание последовательностей, конкурентная аллель-специфичная ПЦР, молекулярный маркер.

### Введение

По данным FAO, твердая и мягкая пшеница является одной из ключевых культур, возделываемых на территории Российской Федерации. Современные темпы роста населения и требования к качеству продукции, в частности, зерна, приводят к поиску новых стратегий селекции, в том числе высокопроизводительного генотипирования сортов, селекционных форм, линий, популяций по аллелям генов, влияющих на проявление хозяйственно-ценных признаков [2, 17, 12, 22].

Существует большое количество методов и разработанных маркеров, позволяющих различить аллели генов, представляющих интерес для селекционеров. У многих типов маркеров есть ряд недостатков для массового анализа: доминантные маркеры, различающие аллели по размеру ампликона, требуют проведения гель-электрофореза, CAPS-маркеры требуют проведения рестрикционного анализа и гель-электрофореза [4, 10, 16].

Конкурентная аллель-специфичная ПЦР (Competitive allele specific PCR -KASP) позволяет проводить быстрое и массовое генотипирование большого количества сортов или линий. Суть метода заключается в конкурентировании двух праймеров, подобранных таким образом, чтобы на 3'-конце каждого праймера содержался SNP, с помощью которого можно различить анализируемые аллели гена. KASP-маркер состоит из двух прямых праймеров, с помощью которых происходит различение аллелей, и одного общего обратного праймера, и двух соответствующих прямым праймерам FRET-кассет (Fluorescence resonance energy transfer) с флуорофорами разной длины волны.

Таким образом, если анализируемый объект гомозиготен, то амплификация происходит только с одним из прямых праймеров, что приводит к детекции сигнала той длины волны,

которая соответствует этому прямому праймеру. В случае гетерозиготного по анализируемому гену объекта детектироваться будут сигналы обеих волн. KASP-генотипирование требует наличия амплификатора с несколькими каналами детекции сигнала в реальном времени и не требует дальнейшего проведения гель-электрофореза [1, 9].

Для разработки KASP-маркера используются данные SNPseq (типирование однонуклеотидных полиморфизмов) и GWAS (genome-wide association studies, полногеномный поиск ассоциаций) для поиска SNP, ассоциированных с фенотипическим проявлением хозяйственно-ценного признака. В настоящее время были разработаны KASP-маркеры на множество хозяйственно-ценных генов у различных культур включая пшеницу [18].

Разработка маркеров – сложный процесс, требующий валидации и верификации различными способами на всех этапах процесса. Один из способов – проверка специфичности последовательности праймеров непосредственно в последовательности генома твердой или мягкой пшеницы.

В настоящее время доступны данные собранных геномов мягкой пшеницы с разным географическим происхождением, на основе которых можно проводить первичную проверку праймеров для дальнейшей работы с ними и интерпретации фактически получаемых данных.

### **Материал и методика исследований**

*Биоинформатический анализ.* Были использованы KASP-маркеры, разработанные на различные признаки устойчивости к болезням и неблагоприятным факторам среды, маркеры на гены, влияющие на другие хозяйственно-ценные признаки (табл. 1). Последовательности праймеров получены из источников литературы. Последовательности геномов мягкой пшеницы, на которые выравнивались праймеры, доступны в NCBI (National Center for Biotechnology Information) (табл. 2).

Выравнивание последовательностей праймеров в геномах проводилось на локальном сервере с помощью BLAST 2.5.0. Полученные результаты конвертировались в BED-файл, содержащий координаты участка с сайтом посадки праймера, длина участка составляла 2000 пн. Перекрывающиеся участки сливались в один и приобретали длину более 2000 пн. Экстракция последовательностей геномов, содержащих места посадки праймеров, проводилась с помощью bedtools v2.26.0. Фильтрация полученных последовательностей проводилась с помощью seqkit v2.2.0 по целевой хромосоме и по длине последовательности. Последовательности, полученные с целевой хромосомы, использовались для дальнейшего анализа без учета длины последовательности. Последовательности, полученные не с целевой хромосомы, использовались для дальнейшего анализа только в случае длины более 2000 пн, так как это означало, что на нецелевой хромосоме выравниваются один из прямых праймеров и обратный праймер, что может привести к амплификации неспецифического продукта. Визуализация результатов проводилась в GeneDoc software.

*Растительный материал. Выделение ДНК. KASP-анализ.* Для апробации работоспособности праймеров была использована коллекция твердой пшеницы НЦЗ им. П.П. Лукьяненко (96 образцов). ДНК выделялась СТАВ-методом с модификациями [15].

Рабочая смесь ПЦР объемом 10 мкл содержала 5 мкл мастер-микс (LCG Bioscience Technologies, KASP 2X Mmix KBS-1050–102 с присутствием красителей FAM, HEX, ROX); 0,14 мкл праймеров и 5 мкл ДНК-матрицы. Смесь инкубировалась на следующем термальном цикле: первичная денатурация – 94°C, 15 мин, 1 цикл; 94°C, 20 с, 60 С, 1 мин с понижением температуры на 0,6°C каждый цикл – 9 циклов; 94°C, 20 с, 55°C, 1 мин – 35 циклов; 37°C, 1 мин – считывание сигнала. Для проведения ПЦР, считывания сигнала и обработки данных использовались амплификатор BIO-RAD CFX96 и программное обеспечение CFX Manager.

## Маркеры и последовательности праймеров, использованные в работе

Признак	Ген	Локализация	Вариант аллели	Последовательности KASP праймеров	Источники
Предуборочное прорастание	<i>MFT-A1 (MOTHER OF FT AND TFL1)</i>	3AS	Jagger type	GTCCTTCCAGAGGC-CATGTGC	Lei et al. (2013); Rasheed et al. (2016)
			Others	GTCCTTCCAGAGGC-CATGTGC	
				ACAGGTCAAGCGACAC-GTAGCC	
Предуборочное прорастание	<i>VP-1B (Viviparous-1)</i>	3BL	<i>Vp-1Ba, b</i>	CGCTCTTATATTAGTTTACG-GAGGGAG	Yang et al. (2007); Rasheed et al. (2016)
			<i>Vp-1Bc</i>	CTCATTTTGATAGCTC-TAGCTAA	
				CTTCTTCCGAAGTGAT-CATATG	
Засухоустойчивость	<i>Dreb-B1 (Dehydration responsive element binding)</i>	3BS	<i>Dreb-B1a</i>	CCTGCG-CACTTTCTTCTTCCTGT	Wei et al. (2009); Rasheed et al. (2016)
			<i>Dreb-B1b</i>	CTGCG-CACTTTCTTCTTCCTGG	
				TTTCACCTTGATATG-GATTGCCTTGAT	
Устойчивость к листовой ржавчине	Lr14a	7BL	<i>Lr14+</i>	CTACACTAGTACTACTTT-GAGACAATTTTTT	Terracciano et al. (2013); Rasheed et al. (2016)
			<i>Lr14-</i>	ACACTAGTACTACTTT-GAGACAATTTTAA	
				AACAAACTCCAGTGTAAC-CACCACAGTTT	
Масса зерновки	TGW6 (Thousand grain weight)	3AL	<i>TGW6-A1a</i>	CTGCGCTTCACCAACGGT-GTTGACGTCG	Hanif et al. (2016); Rasheed et al. (2016)
			<i>TGW6-A1b</i>	CTGCGCTTCACCAACGGT-GTTGACGTCA	
				GTGAAGTAGACTTGACCC-GTAACTTGAT	
Цвет зерновки	<i>Psy-A1 (Phytoene synthase)</i>	7AL	Psy-A1a	GCCATCTACGGTAATCT-GAAAATTCA	He et al. (2008); Rasheed et al. (2016)
			Psy-A1b	GCCATCTACGGTAATCT-GAAAATTCG	
				GTGAAGTAGACTTGACCC-GTAACTTGAT	

**Использованные в исследовании сборки геномов мягкой пшеницы**

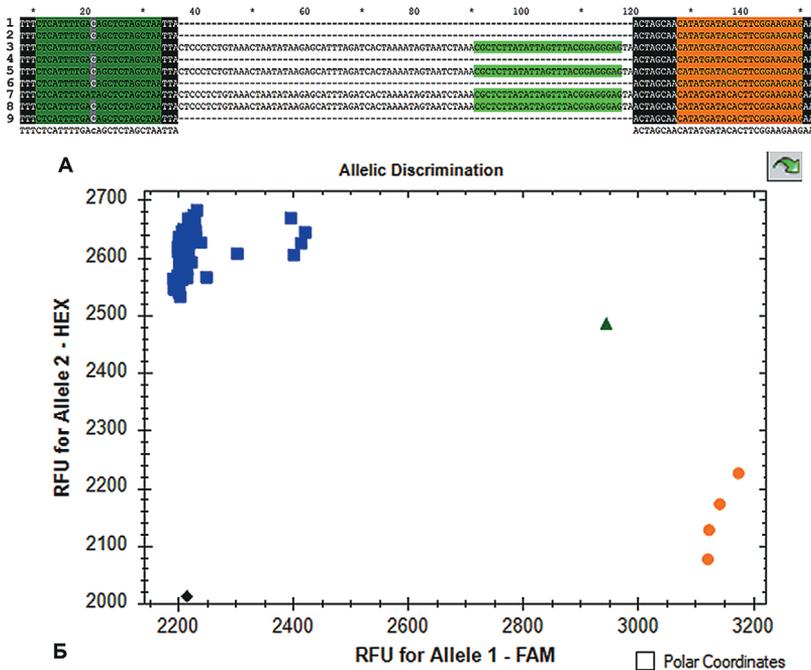
Genbank accession	Название сорта
ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_903993985.1	ArinaLrFor
ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_903994185.1	SY Mattis
ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_903993975.1	LongReach Lancer
ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_903994175.1	Mace
ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_904066035.1	Norin 61
ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_903994155.1	CDC Stanley
ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_903994195.1	Julius
ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_903995565.1	CDC Landmark
ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_903993795.1	Jagger
ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_018294505.1	Chinese Spring

**Результаты и их обсуждение**

С помощью биоинформатических методов и непосредственной апробации с помощью ПЦР нами проанализированы 5 различных молекулярных KASP-маркеров, разработанных на гены мягкой и твердой пшеницы.

*VIVIPAROUS-1* (VP-1B). Классический молекулярный маркер на ген *VP-1B* был разработан Yang et al. (2007), апробацию KASP-маркера осуществили Rasheed et al. (2016). Ген *VIVIPAROUS-1* (*VP-1B*), локализованный на хромосоме 3B, оказывает влияние на развитие зародыша и переход в фазу покоя [23]. Праймеры для KASP-маркера подобраны на инсерцию-делецию 83 пн, которая отличает аллель *VP-1Bc*, ассоциированный с устойчивостью к прорастанию на корню, от аллелей *VP-1Ba* и *VP-1Bb*, ассоциированных с неустойчивостью. Выравнивание последовательностей показало отсутствие неспецифических выравниваний на другие хромосомы, отсутствие неточностей в последовательностях праймеров, выравнивания единообразны во всех проанализированных 10 геномах мягкой пшеницы (рис. 1А).

На рисунке 1Б представлена картина анализа флуоресценции по конечной точке ПЦР-продукта, полученного с помощью анализируемых маркеров. Как можно увидеть, аллельная дискриминация ПЦР четко разделяет образцы по генотипу. Черная точка на картинке – отрицательный контроль (вода); облако синих точек – образцы пшеницы, несущие аллель *VP-1Bc*; облако оранжевых точек – образцы пшеницы, несущие аллель *VP-1Ba* или *VP-1Bb*; зеленая точка – гетерозиготный образец. При этом разница интенсивности флуоресценции по обоим каналам детекции по сравнению с отрицательным контролем достаточно существенная и составляет 500–1000 ед. (рис. 1Б). Оба облака точек четко разделяются и отстоят друг от друга на существенном расстоянии. Таким образом, по всем параметрам это эталонно-работающий маркер.

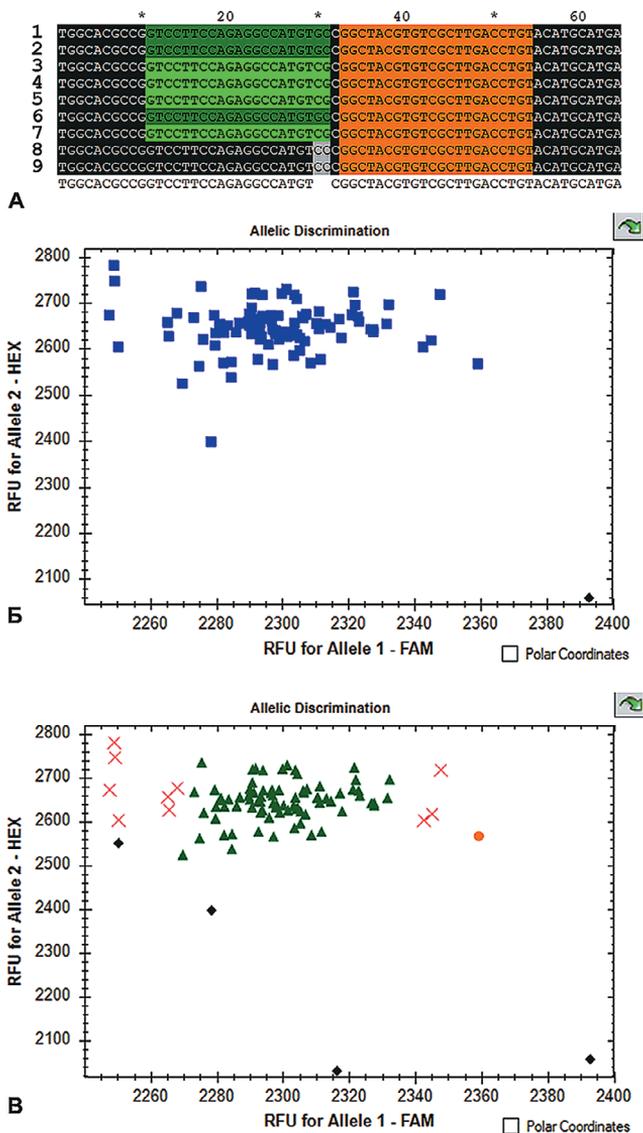


**Рис. 1А.** Визуализация расположения последовательностей праймеров KASP-маркера на аллельные варианты гена *VP-1B* на сборках геномов мягкой пшеницы: 1 – CDC Landmark 3B; 2 – LongReach Lancer 3B; 3 – Julius 3B; 4 – Jagger 3B; 5 – ArinaLrFor 3B; 6 – CDC Stanley 3B; 7 – Norin 61 3B; 8 – SY Mattis 3B; 9 – Mace 3B. Салатовым цветом выделены последовательности праймера на аллели *VP-1Ba/VP-1Bb* (FAM, неустойчивый к прорастанию на корню), темно-зеленым – праймеры на аллель *VP-1Bc* (HEX, устойчивый к прорастанию на корню), оранжевым – обратный общий праймер.

**Б.** Результат детекции по конечной точке флуоресценции ПЦР (оранжевый цвет – образцы, гомозиготные по аллелю *VP-1Ba* или *VP-1Bb*, синий – образцы, гомозиготные по аллелю *VP-1Bc*, зеленый – гетерозиготные образцы, черный – отрицательный контроль)

*MOTHER OF FT AND TFL1*. Молекулярный маркер на ген *MFT-A1* был разработан Lei et al. (2013), апробацию KASP-маркера осуществили Rasheed et al. (2016). Ген *MOTHER OF FT AND TFL1* (*MFT-A1*) локализован на хромосоме 3A и оказывает влияние на устойчивость к предуборочному прорастанию [11]. Выделяют аллельное состояние гена Jagger type, ассоциированное с устойчивостью к прорастанию на корню, и Others – другие варианты гена, влияние на устойчивость которых не подтверждено достоверно. Выравнивание последовательностей праймеров в геномах показало, что 3'-конец праймера приходится на динуклеотидный полиморфизм. Праймеры выравниваются только на целевые хромосомы, выравнивание является единообразным.

На рисунке 2Б представлен один из типичных результатов анализа с помощью KASP-маркеров, когда в выборке проанализированных образцов не встречается аллельное разнообразие. Зачастую автоматическая программа анализа аллельной дискриминации по конечной точке флуоресценции пытается разнести их на разные типы аллелей (рис. 2В). Однако следует обращать внимание на изменение уровня флуоресценции по каждому из каналов: изменение по каналу флуоресценции FAM составило всего около 140 ед., а по каналу HEX – 300–700 ед. С учетом предварительной биоинформатической проверки праймеров, которая показала, что праймеры высокоспецифичны, мы должны отнести все проанализированные образцы к типу HEX и аллельному варианту Others.



**Рис. 2А.** Визуализация расположения последовательности праймеров KASP-маркера MFT-1A на геномах мягкой пшеницы: 1 – LongReach Lancer 3A; 2 – ArinaLrFor 3A; 3 – CDC Landmark 3A; 4 – Julius 3A; 5 – Jagger Un; 6 – Norin 61 3°; 7 – SY Mattis 3°; 8 – CDC Stanley 3°; 9 – Mace 3A. Салатовым цветом выделены последовательности праймера на аллели гена *MFT-1A* Jagger type (FAM, устойчивый к предуборочному прорастанию), темно-зеленым – аллель гена *MFT-1A* Others (HEX, неустойчивый к предуборочному прорастанию), оранжевым – обратный общий праймер.

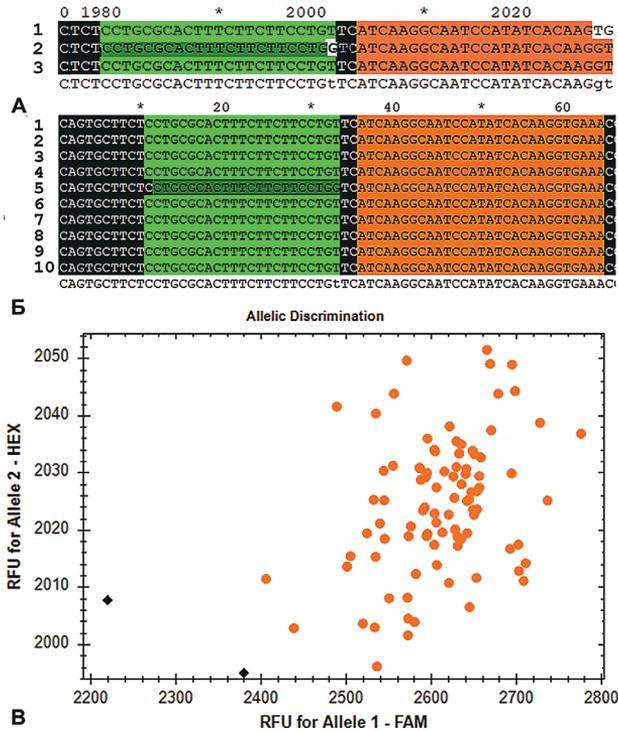
**Б.** Результат детекции по конечной точке флуоресценции ПЦР (оранжевый цвет – образцы, гомозиготные по аллелю Jagger type, синий – образцы, гомозиготные по аллелю Others, зеленый – гетерозиготные образцы, черный – отрицательный контроль).

**В.** Результат детекции по конечной точке флуоресценции ПЦР, определенный автоматически программным обеспечением

*Dehydration responsive element binding.* Молекулярный маркер на ген *DREB-1* был разработан Wei et al. (2009), разработку KASP-маркера и апробацию осуществили Ra-sheed et al. (2016). Ген *Dehydration responsive element binding (DREB-1)* локализован

на хромосоме 3В, его аллель *DREB-1a* ассоциирована с засухоустойчивостью [21]. При биоинформатическом анализе было показано, что в геноме Chinese Spring праймеры выравниваются на гомеологичные хромосомы всех трех субгеномов пшеницы (рис. 3А, 3Б). Данные праймеры могут привести к образованию неспецифичного продукта в ходе реакции и к сложностям интерпретации результатов.

На рисунке 3В представлен результат анализа с помощью KASP-маркеров. Как и в случае с предыдущими праймерами, автоматическая программа анализа аллельной дискриминации по конечной точке флуоресценции пытается разнести образцы на разные типы аллелей. По уровню флуоресценции по каждому из каналов флуоресценции видим, что изменение по каналу флуоресценции FAM составило всего 200–800 ед., а по каналу HEX – всего 40 ед.



**Рис. 3А.** Визуализация расположения последовательностей праймеров KASP-маркера *DREB-1* на геноме мягкой пшеницы:

1 – Chinese Spring 3A; 2 – Chinese Spring 3B; 3 – Chinese Spring 3D.

Салатовым цветом выделены последовательности праймера на аллели *Dreb-1a* (FAM повышает засухоустойчивость), темно-зеленым – аллель *Dreb-1b* (HEX понижает засухоустойчивость), оранжевым – обратный общий праймер.

**Б.** Визуализация расположения последовательностей праймеров KASP-маркера *MFT-1A* на геномах мягкой пшеницы:

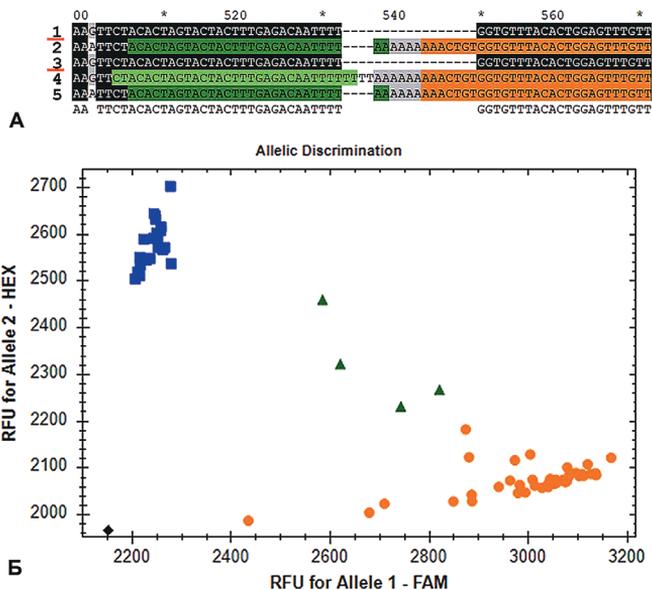
1 – CDC Stanley 3B; 2 – SY Mattis 3B; 3 – Mace 3B; 4 – Norin 61 3B; 5 – CDC Landmark 3B; 6 – LongReach Lancer 3B; 7 – Julius 3B; 8 – Jagger 3B; 9 – ArinaLrFor 3B.

**В.** Результат детекции по конечной точке флуоресценции ПЦР (оранжевый цвет – образцы, гомозиготные по аллелю *DREB-1a*, синий – образцы, гомозиготные по аллелю *DREB-1b*, зеленый – гетерозиготные образцы, черный – отрицательный контроль)

Таким образом, все проанализированные образцы должны быть отнесены к типу FAM и аллельному варианту *DREB-1a*. Большая «вытянутость» облака точек по каналу детекции FAM (200–800) может быть объяснена некоторым

неспецифическим срабатыванием праймеров на других сайтах локализации. Однако при наличии предварительного биоинформатического анализа это не мешает правильному определению аллельных вариантов у изучаемых образцов. По результатам ПЦР все проанализированные образцы относятся к генотипу *DREB-B1a*.

*Ген устойчивости к листовой ржавчине Lr14a*. Молекулярный маркер на локус *Lr14a* был разработан Terracciano et al. (2013), апробацию KASP-маркера осуществили Rasheed et al. (2016). Ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr14* локализован на хромосоме 7В [19]. Выравнивание в геномах показало, что место посадки праймеров является полиморфным участком. Праймеры при возможности нужно подбирать на консервативные участки последовательности, в противном случае ожидается отсутствие реакции с участием этих праймеров (рис. 4А).



**Рис. 4А.** Визуализация расположения последовательностей праймеров KASP-маркера *Lr14a* на геномах мягкой пшеницы: 1 – Mace 7В; 2 – Norin 61 7В; 3 – Jagger 7В; 4 – LongReach Lancer 7В; 5 – ArinaLrFor 7В. Салатовым цветом выделены последовательности праймера на аллели *Lr14+* (FAM, устойчивый к листовой ржавчине), темно-зеленым – аллель *Lr14-* (HEX, неустойчивый к листовой ржавчине), оранжевым – обратный общий праймер. Линиями красного цвета подчеркнуты выравнивания на целевой хромосоме, которые сильно отличаются в местах посадки праймеров.

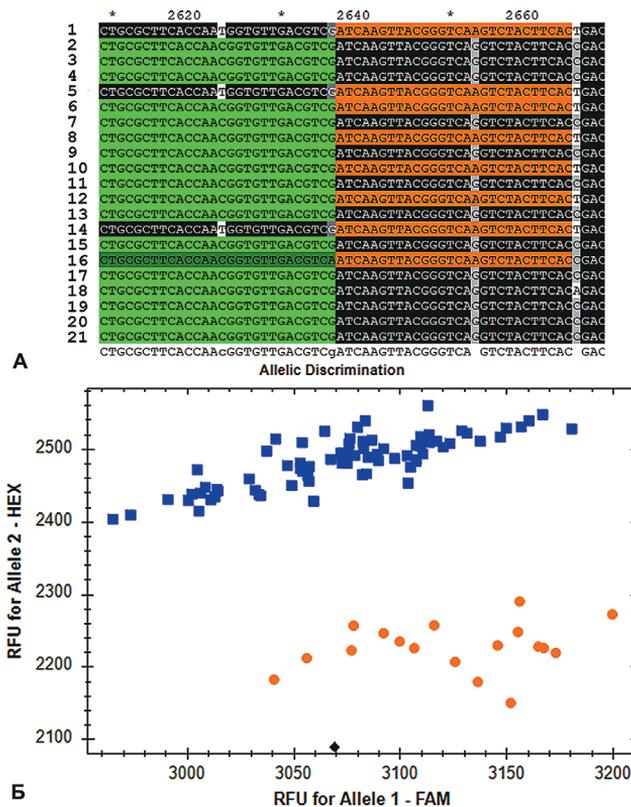
**Б.** Результат детекции по конечной точке флуоресценции ПЦР (оранжевый цвет – образцы, гомозиготные по аллелю *Lr14+*, синий – образцы, гомозиготные по аллелю *Lr14-*, зеленый – гетерозиготные образцы, черный – отрицательный контроль)

На рисунке 4Б представлена картина анализа флуоресценции по конечной точке ПЦР продукта, полученного с помощью анализируемых маркеров. Аллельная дискриминация ПЦР подразделяет образцы по генотипу, но нет четкого разделения между группами гетерозигот и группой образцов с флуоресценцией по каналу FAM. Наиболее вероятно, что это вызвано полиморфизмом в местах посадки праймеров, выявленным при биоинформатическом анализе.

Таким образом, при интерпретации полученных результатов образцы могут быть достоверно подразделены только на две группы: 1) отсутствие *Lr14* (аллель *Lr14-*, HEX); 2) наличие *Lr14* в гомозиготном (аллель *Lr14+*, FAM) или гетерозиготном состоянии.

*Thousand grain weight*. Молекулярный маркер на ген *TGW6* был разработан Hanif et al. (2016), апробацию KASP-маркера осуществили Rasheed et al. (2016). Ген *Thousand grain weight (TGW6)*, локализованный на хромосоме 3A, оказывает влияние на массу зерновки, аллель *TGW6-A1a* повышает массу зерновки [6]. Праймеры выравниваются на хромосому 3A в нескольких местах, а также на хромосому 3B. Использование данных праймеров может привести к амплификации нецелевого участка и невозможности правильно интерпретировать результаты (рис. 5А).

На рисунке 5Б представлена картина анализа флуоресценции по конечной точке ПЦР продукта, полученного с помощью анализируемых маркеров. Разделение образцов выглядит в виде двух вытянутых вдоль оси абсцисс облаков. Это вызвано неспецифической амплификацией по каналу FAM с нецелевых участков хромосом, показанных с помощью биоинформатического анализа. В данном случае при интерпретации результатов можно говорить только о наличии аллеля *TGW6-A1b* (HEX) без определения его состояния (гомо- или гетерозигота).



**Рис. 5А.** Визуализация расположения последовательностей праймеров KASP-маркера *TGW6* на геномах мягкой пшеницы:

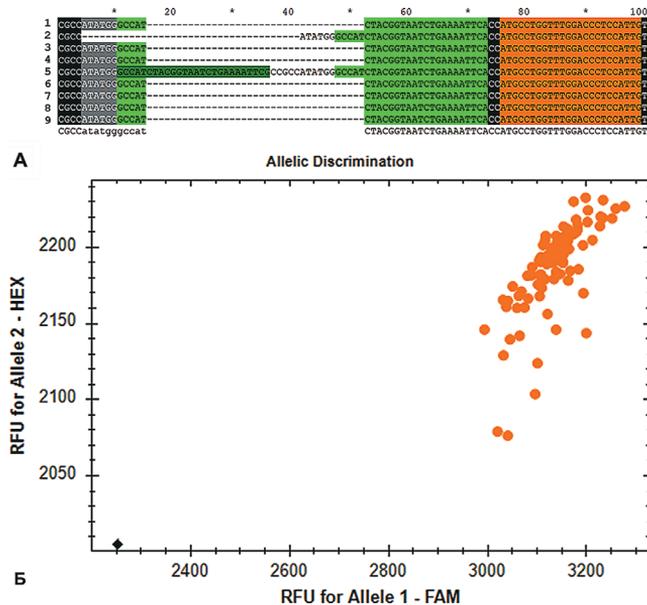
- 1, 2, 3 – Jagger 3A; 4, 5 – LongReach Lancer 3A; 6, 7 – ArinaLrFor 3A; 8, 9 – Mace 3A; 10, 11 – Julius 3A; 12; 13 – CDC Stanley 3A; 14, 15 – CDC Landmark 3A; 16, 17 – Norin61 3A; 18 – LongReach Lancer 3B; 19 – LongReach Lancer 3D; 20 – Mace 3D; 21 – Norin61 3D).

Салатовым цветом выделены последовательности праймера на аллели *TGW6-A1a* (FAM повышает массу зерновки), темно-зеленым – аллель *TGW6-A1b* (HEX), оранжевым – обратный общий праймер. Праймеры имеют несколько сайтов выравнивания в каждом геноме на целевых и нецелевых хромосомах.

**Б.** Результат детекции по конечной точке флуоресценции ПЦР (оранжевый цвет – образцы, гомозиготные по аллелю *TGW6-A1a*, синий – образцы, гомозиготные по аллелю *TGW6-A1b*, черный – отрицательный контроль)

*PSY-A1*. Молекулярный маркер на ген *PSY-A1* был разработан He et al. (2008), апробацию KASP-маркера осуществили Rasheed et al. (2016). Ген *PSY-A1*, локализованный на хромосоме 7A, кодирует фермент фитоенсинтазу, который оказывает влияние на цветочные характеристики конечной продукции. Аллель *PSY-A1a* связывают с повышением содержания желтого пигмента, аллель *PSY-A1b* – со сниженным содержанием, нуклеотидная последовательность последнего отличается от *PSY-A1a* вставкой [8]. Выравнивание праймеров показало, что прямой *PSY-A1a*-специфичный праймер выравнивается на общий для обоих аллелей регион, а прямой *PSY-A1b*-специфичный праймер выравнивается на вставку, отличающую *PSY-A1b* от *PSY-A1a* (рис. 6А). Это приводит к тому, что при наличии аллеля *PSY-A1b* оба прямых праймера имеют равную вероятность отжига, и это может затруднить кластеризацию образцов в зависимости от длины волны испускаемого сигнала.

На рисунке 6Б представлены результаты работы данных праймеров. Несмотря на то, что картина похожа на варианты, описанные нами в некоторых предыдущих вариантах апробации праймеров, с учетом данных, полученных с помощью биоинформатического анализа, интерпретация данной картины невозможна. Данный молекулярный KASP-маркер работает некорректно и не может быть использован для массовых анализов.



**Рис. 6А.** Визуализация расположения последовательностей праймеров KASP-маркера *PSY-A1* на геномах мягкой пшеницы:

- 1 – Norin 61 7A; 2 – Mace 7A; 3 – CDC Stanley 7A; 4 – SY Mattis 7A; 5 – LongReach Lancer 7A; 6 – Julius 7A; 7 – Jagger 7A; 8 – ArinaLrFor 7A; 9 – CDC Landmark Un.

Салатовым цветом выделены последовательности праймера на аллели *PSY-A1a* (FAM, повышение содержания желтого пигмента), темно-зеленым – аллель *PSY-A1b* (HEX, понижение содержания желтого пигмента), оранжевым – обратный общий праймер.

**Б.** Результат детекции по конечной точке флуоресценции ПЦР (оранжевый цвет – образцы, гомозиготные по аллелю *PSY-A1a*, черный – отрицательный контроль)

В результате исследований установлено, что ряд маркеров нуждается в доработке и дополнительных тестах и исследованиях, а один из них можно признать неработающим. Подбор последовательностей праймеров для полиплоидных организмов (таких, как пшеница) часто становится непростой задачей. Существует множество инструментов для облегчения дизайна праймеров с учетом особенностей полиплоидных геномов [13]. Предложенный нами метод позволяет быстро проверить, насколько уже

существующие маркеры отвечают требованиям работоспособности и эффективности. Ранее в исследованиях Brinton et. al (2020), Darrier et. al (2022) использовались геномные сборки мягкой пшеницы для картирования генов и идентификации новых гаплотипов.

В результате проведенных исследований были продемонстрированы различные варианты амплификации KASP-маркеров и их интерпретации с учетом биоинформатического анализа.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 21-16-00121 и государственного задания № 0431-2022-0009.*

### Библиографический список

1. Ayalew H., Tsang P.W., Chu C., Wang J., Liu S., Chen C., Ma X.F. Comparison of TaqMan, KASP and rhAmp SNP genotyping platforms in hexaploid wheat // PLOS ONE. – 2019. – Vol. 14. – № 5. – P. e0217222.
2. Brinton J., Ramirez-Gonzalez R.H., Simmonds J., Wingen L., Orford S., Griffiths S. & 10 Wheat Genome Project, Haberer G., Spannagl M., Walkowiak S., Pozniak C. & Uauy C. A haplotype-led approach to increase the precision of wheat breeding // Communications Biology. – 2020. – Vol. 3. – № 1. – P. 712.
3. Darrier B., Colas I., Rimbert H., Choulet F., Bazile J., Sortais A., Jenczewski E., Sourdille P. Location and Identification on Chromosome 3B of Bread Wheat of Genes Affecting Chiasma Number // Plants. – 2022. – Vol. 11. – № 17. – P. 2281.
4. Duan X., Yu H., Ma J., Sun W., Zhao Y., Yang R., Ning T., Li Q., Q. Liu, Guo T., Yan M., Tian J., Chen J. A major and stable QTL controlling wheat thousand grain weight: identification, characterization, and CAPS marker development // Molecular Breeding. – 2020. – Vol. 40. – № 7. – P. 68.
5. Food and Agriculture Organization of the United Nations Selected indicators in Russian Federation // Сайт FAOSTAT. – 2020. – URL: <https://www.fao.org/faostat/en/#country/185>.
6. Hanig M., Gao F., Liu J., Wen W., Zhang Y., Rasheed A., Xia X., He Z. & Cao S. TaTGW6-A1, an ortholog of rice TGW6, is associated with grain weight and yield in bread wheat // Molecular Breeding. – 2016. – Vol. 36. – № 1. – P. 1.
7. He X.Y., He Z.H., Zhang L.P., Sun D.J., Morris C.F., Fuerst E.P. & Xia X.C. Allelic variation of polyphenol oxidase (PPO) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the PPO genes in common wheat // Theoretical and Applied Genetics. – 2007. – Vol. 115. – № 1. – Pp. 47–58.
8. He X.Y., Zhang Y.L., He Z.H., Wu Y.P., Xiao Y.G., Ma C.X. & Xia X.C. Characterization of phytoene synthase 1 gene (Psy1) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker // Theoretical and Applied Genetics. – 2008. – Vol. 116. – № 2. – Pp. 213–221.
9. Kaur B., Mavi G.S., Gill M.S., Saini D.K. Utilization of KASP technology for wheat improvement // Cereal Research Communications. – 2020. – Vol. 48. – № 4. – Pp. 409–421.
10. Kumar S., Kumar M., Mir R.R., Kumar R. & Kumar S. Advances in Molecular Markers and Their Use in Genetic Improvement of Wheat // Physiological, Molecular, and Genetic Perspectives of Wheat Improvement. – Cham: Springer International Publishing, 2021. – Pp. 139–174.
11. Lei L., Zhu X., Wang S., Zhu M., Carver B.F., Yan L. TaMFT-A1 Is Associated with Seed Germination Sensitive to Temperature in Winter Wheat // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8. – № 9. – P. e73330.
12. Poland J.A., Brown P.J., Sorrells M.E., Jannink J. – L. Development of High-Density Genetic Maps for Barley and Wheat Using a Novel Two-Enzyme Genotyping-by-Sequencing Approach // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7. – № 2. – P. e32253.

13. Ramirez-Gonzalez R.H., Uauy C., Caccamo M. PolyMarker: A fast polyploid primer design pipeline: Fig. 1 // *Bioinformatics*. – 2015. – Vol. 31. – № 12. – Pp. 2038–2039.
14. Rasheed A., Wen W., Gao F., Zhai S., Jin H., Liu J., Guo Q., Zhang Y., Dreisigacker S., Xia X. & He Z. Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2016. – Vol. 129. – № 10. – Pp. 1843–1860.
15. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi // *Plant Molecular Biology Manual*. – Dordrecht: Springer Netherlands, 1994. – Pp. 183–190.
16. Shavrukov Y. Comparison of SNP and CAPS markers application in genetic research in wheat and barley // *BMC Plant Biology*. – 2016. – Vol. 16. – № S1. – P. 11.
17. Tan C., Assanga S., Zhang G., Rudd J.C., Haley S.D., Xue Q., Ibrahim A., Bai G., Zhang X., Byrne P., Fuentealba M.P., Liu S.. Development and Validation of KASP Markers for Wheat Streak Mosaic Virus Resistance Gene Wsm2 // *Crop Science*. – 2017. – Vol. 57. – № 1. – Pp. 340–349.
18. Tariq H. A novel and high throughput wheat (*Triticum aestivum* L.) genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR assay for genes underpinning major economic attributes // *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. – 2021. – Vol. 58. – № 06. – Pp. 1799–1807.
19. Terracciano I., Maccaferri M., Bassi F., Mantovani P., Sanguineti M.C., Salvi S., Šimková H., Doležel J., Massi A., Ammar K., Kolmer J. & Tuberosa R. Development of COS-SNP and HRM markers for high-throughput and reliable haplotype-based detection of Lr14a in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2013. – Vol. 126. – № 4. – Pp. 1077–1101.
20. Walkowiak S., Gao L., Monat C. et al. Multiple wheat genomes reveal global variation in modern breeding // *Nature*. – 2020. – Vol. 588. – № 7837. – Pp. 277–283.
21. Wei B., Jing R., Wang C., Chen J., Mao X., Chang X. & Jia J. Dreb1 genes in wheat (*Triticum aestivum* L.): development of functional markers and gene mapping based on SNPs // *Molecular Breeding*. – 2009. – Vol. 23. – № 1. – Pp. 13–22.
22. Winfield M.O., Allen A.M., Burr ridge A.J. et al. High-density SNP genotyping array for hexaploid wheat and its secondary and tertiary gene pool // *Plant Biotechnology Journal*. – 2016. – Vol. 14. – № 5. – Pp. 1195–1206.
23. Yang Y., Zhao X.L., Xia L.Q., Chen X.M., Xia X.C., Yu Z., Z.H. He & Röder M. Development and validation of a Viviparous-1 STS marker for pre-harvest sprouting tolerance in Chinese wheats // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2007. – Vol. 115. – № 7. – Pp. 971–980.

## COMPETITIVE ALLELE SPECIFIC PCR (KASP): FEATURES, THE INTERPRETATION OF THE RESULTS

E.A. NIKITINA<sup>1</sup>, A.V. ARKHIPOV<sup>1</sup>, YA.V. MIN'KOVA<sup>1</sup>,  
A.S. YANOVSKIY<sup>2</sup>, V.A. KOROBKOVA<sup>1</sup>, M.A. SAMARINA<sup>1,3</sup>,  
A.G. CHERNOOK<sup>1</sup>, P.YU. KRUPIN<sup>1</sup>, G.I. KARLOV<sup>1</sup>, M.G. DIVASHUK<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup> All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology,

<sup>2</sup> National Center of Grain Named after P.P. Lukyanenko,

<sup>3</sup> Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

*The use of competitive allele-specific PCR is becoming a popular method for mass crop genotyping. The development of markers for SNPs in polyploid organisms requires additional validation and testing when developing primers for further use. In this work, we propose an algorithm for testing and interpreting the performance of KASP markers on wheat using existing common wheat genomic assemblies. Using the described algorithm, six KASP-markers on VIVIPAROUS-1,*

*MOTHER OF FT AND TFL1, TGW6-A1, PSY-A1, Dreb-B1 and leaf rust resistance locus Lr14a were analyzed. The most promising KASP markers by bioinformatic analysis and PCR were the markers for VIVIPAROUS-1, MOTHER OF FT AND TFL1 genes.*

**Key words:** KASP, durum wheat, common wheat, sequence alignment, competitive allele-specific PCR, molecular marker.

## References

1. Ayalew H., Tsang P.W., Chu C., Wang J., Liu S., Chen C., Ma X.F. Comparison of TaqMan, KASP and rhAmp SNP genotyping platforms in hexaploid wheat. PLOS ONE. 2019; 14 (5): e0217222.
2. Brinton J., Ramirez-Gonzalez R.H., Simmonds J., Wingen L., Orford S., S. Griffiths, 10 Wheat Genome Project, Haberer G., Spannagl M., Walkowiak S., Pozniak C., Uauy C. A haplotype-led approach to increase the precision of wheat breeding. Communications Biology. 2020; 3 (1): 712.
3. Darrier B., Colas I., Rimbert H., Choulet F., Bazile J., Sortais A., Jenczewski E., Sourdille P. Location and Identification on Chromosome 3B of Bread Wheat of Genes Affecting Chiasma Number. Plants. 2022; 11 (17): 2281.
4. Duan X., Yu H., W. Sun Ma J., Zhao Y., Yang R., Ning T., Li Q., Liu Q., Guo T., Yan M., Tian J., Chen J. A major and stable QTL controlling wheat thousand grain weight: identification, characterization, and CAPS marker development. Molecular Breeding. 2020; 40 (7): 68.
5. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Selected indicators in Russian Federation, 2020. [Electronic source]. URL: <https://www.fao.org/faostat/en/#country/185>
6. Hanig M., Gao F., Liu J., Wen W., Zhang Y., A Rasheed., Xia X., He Z., Cao S. TaTGW6-A1, an ortholog of rice TGW6, is associated with grain weight and yield in bread wheat. Molecular Breeding. 2016; 36 (1): 1.
7. He X.Y., He Z.H., Zhang L.P., Sun D.J., Morris C.F., Fuerst E.P., Xia X.C. Allelic variation of polyphenol oxidase (PPO) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the PPO genes in common wheat. Theoretical and Applied Genetics. 2007; 115 (1): 47–58.
8. He. X.Y., Zhang Y.L., He Z.H., Wu Y.P., Xiao Y.G., Ma C.X., Xia X.C. Characterization of phytoene synthase 1 gene (Psy1) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker. Theoretical and Applied Genetics. 2008; 116 (2): 213–221.
9. Kaur B., Mavi G.S., Gill M.S., Saini D.K. Utilization of KASP technology for wheat improvement. Cereal Research Communications. 2020; 48 (4): 409–421.
10. Kumar S., Kumar M., Mir R.R., Kumar R. Advances in Molecular Markers and Their Use in Genetic Improvement of Wheat. Physiological, Molecular, and Genetic Perspectives of Wheat Improvement. Cham: Springer International Publishing, 2021: 139–174.
11. Lei L., Zhu X., Wang S., Zhu M., Carver B.F., Yan L. TaMFT-A1 Is Associated with Seed Germination Sensitive to Temperature in Winter Wheat. PLoS ONE. 2013; 8 (9): e73330.
12. Poland J.A., Brown P.J., Sorrells M.E., Jannink J. – L. Development of High-Density Genetic Maps for Barley and Wheat Using a Novel Two-Enzyme Genotyping-by-Sequencing Approach. PLoS ONE. 2012; 7 (2): e32253
13. Ramirez-Gonzalez R.H., Uauy C., Caccamo M. PolyMarker: A fast polyploid primer design pipeline: Fig. 1. Bioinformatics. 2015; 31 (12): 2038–2039.
14. Rasheed A., Wen W., Gao F., Zhai S., Jin H., Liu J., Guo Q., Zhang Y., Dreisigacker S., Xia X., He Z. Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat. Theoretical and Applied Genetics. 2016; 129 (10): 1843–1860.

15. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. Plant Molecular Biology Manual. Dordrecht: Springer Netherlands, 1994: 183–190.
16. Shavrukov Y. Comparison of SNP and CAPS markers application in genetic research in wheat and barley. BMC Plant Biology. 2016; 16 (S1): 11.
17. Tan C., Assanga S., Zhang G., Rudd J.C., Haley S.D., Xue Q., Ibrahim A., Bai G., Zhang X., Byrne P., Fuentealba M.P., Liu S. Development and Validation of KASP Markers for Wheat Streak Mosaic Virus Resistance Gene Wsm2. Crop Science. 2017; 57 (1): 340–349.
18. Tariq H. A novel and high throughput wheat (*Triticum aestivum* L.) genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR assay for genes underpinning major economic attributes. Pakistan Journal of Agricultural Sciences. 2021; 58 (06): 1799–1807.
19. Terracciano I., Maccaferri M., Bassi F., Mantovani P., Sanguineti M.C., Salvi S., Šimková H., Doležel J., Massi A., Ammar K., Kolmer J., Tuberosa R. Development of COS-SNP and HRM markers for high-throughput and reliable haplotype-based detection of Lr14a in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Theoretical and Applied Genetics. 2013; 126 (4): 1077–1101.
20. Walkowiak S., Gao L., Monat C. et al. Multiple wheat genomes reveal global variation in modern breeding. Nature. 2020; 588 (7837): 277–283.
21. Wei B., Jing R., Wang C., Chen J., Mao X., Chang X., Jia J. Dreb1 genes in wheat (*Triticum aestivum* L.): development of functional markers and gene mapping based on SNPs. Molecular Breeding. 2009; 23 (1): 13–22.
22. Winfield M.O., Allen A.M., Burr ridge A.J. et al. High-density SNP genotyping array for hexaploid wheat and its secondary and tertiary gene pool. Plant Biotechnology Journal. 2016; 14 (5): 1195–1206.
23. Yang Y., Zhao X.L., Xia L.Q., Chen X.M., Xia X.C., Yu Z., He Z.H., Röder M. Development and validation of a Viviparous-1 STS marker for pre-harvest sprouting tolerance in Chinese wheats. Theoretical and Applied Genetics. 2007; 115 (7): 971–980.

**Никитина Екатерина Александровна**, младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; e-mail: shhket@gmail.com

**Архипов Андрей Владимирович**, младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; email: batler51@yandex.ru

**Минькова Яна Вадимовна**, младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; e-mail: fleurs@mail.ru

**Яновский Алексей Сергеевич**, канд. с.-х. наук, в.н.с., Отдел селекции и семеноводства пшеницы и тритикале, Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко; 350012, Российская Федерация, г. Краснодар, Центральная усадьба КНИИСХ; e-mail: yanovskij81@list.ru

**Коробкова Варвара Александровна**, младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; e-mail: bowlingistka@gmail.com

**Самарина Мария Алексеевна**, младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; e-mail: Samarina.homa@yandex.ru

**Черноок Анастасия Геннадьевна**, младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; e-mail: irbis-sibri@yandex.ru

**Крупин Павел Юрьевич**, канд. биол. наук, в.н.с., Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; e-mail: pavelkroupin1985@gmail.com

**Карлов Геннадий Ильич**, д-р биол. наук, академик РАН, директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии»; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; e-mail: karlov@iab.ac.ru

**Дивашук Михаил Георгиевич**, канд. биол. наук, в.н.с., Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; e-mail: divashuk@gmail.com

**Ekaterina A. Nikitina**, Junior Research Associate, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: shhket@gmail.com)

**Andrey V. Arkhipov**, Junior Research Associate, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: batler51@yandex.ru)

**Yana V. Min'kova**, Junior Research Associate, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: fleurs@mail.ru)

**Aleksey S. Yanovskiy**, PhD (Ag), Senior Research Associate, National Center of Grain Named after P.P. Lukyanenko (Krasnodar, Tsentral'naya usad'ba KNIISKH, Krasnodar, 350012, Russian Federation; E-mail: yanovskij81@list.ru)

**Varvara A. Korobkova**, Junior Research Associate, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: bowlingistka@gmail.com)

**Mariya A. Samarina**, Junior Research Associate, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: Samarina.homa@yandex.ru)

**Anastasiya G. Chernook**, Junior Research Associate, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: irbis-sibri@yandex.ru)

**Pavel Yu. Krupin**, PhD (Bio), Senior Research Associate, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: pavelkroupin1985@gmail.com)

**Gennadiy I. Karlov**, DSc (Bio), RAS Academician (Full Member), Director of All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: karlov@iab.ac.ru)

**Mikhail G. Divashuk**, PhD (Bio), Senior Research Associate, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (42 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: divashuk@gmail.com)

## ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЙ ЭКОНОМИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ ПОВРЕЖДЕННОСТИ И ЭКОНОМИЧЕСКИЙ ПОРОГ ВРЕДНОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ ПАУТИННОГО КЛЕЩА НА ЗЕМЛЯНИКЕ

Е.К. ПОНОМАРЕНКО, С.Я. ПОПОВ<sup>1</sup>, А.А. БАЙКОВ<sup>2</sup>, М.С. ГИНС<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева  
<sup>2</sup> Федеральный научный центр овощеводства)

*Паутинные клещи рода *Tetranychus* повсеместно являются одними из значимых вредителей, повреждающих садовую землянику и множество других сельскохозяйственных культур. Одно из важных решений проблем управления популяциями вредителя – уметь идентифицировать пороги вредности этого вредителя, вызывающего при питании изменение окраски листьев растений.*

*Поскольку визуально весьма трудно определить степень повреждения листа паутинными клещами, авторы исследования обратились к обоснованному ими ранее инструментальному методу оценки поврежденности с помощью показателя относительной скорости электронного транспорта (*rETR*) на основе регистрации флуоресценции хлорофилла в листе. Были рассчитаны инструментальные пороги вредности вредителя: экономический уровень поврежденности (ЭУП) и экономический порог вредности (ЭПВ).*

*Исследования проведены в лаборатории на листьях земляники вазонной культуры при температуре воздуха  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , относительной влажности воздуха  $75 \pm 10\%$ , фотопериоде (L : D) 16:8 ч, а также на экспериментальном участке промышленной плантации земляники ЗАО «Совхоз им. Ленина» Московской области на фоне регистрации динамики численности особей на листьях. Одновременно с помощью флуориметра JUNIOR-PAM (Heinz Walz, Германия) измеряли динамику флуоресценции хлорофилла в листьях контрольных (без клещей) и опытных (поврежденных клещами) вариантов.*

*В результате на двух сортах промышленной земляники получили диапазон варьирования числового физиологического показателя, выражаемого через соотношение  $rETR_{\max}$  между опытным и контрольным вариантами, равный 1,4–2,0 усл. ед., который соответствовал экономическому уровню поврежденности (ЭУП) листьев земляники. Последний показатель оказался сопоставимым с тем же показателем, полученным в лабораторных условиях, – 1,6. Экономический порог вредности (ЭПВ), сигнализирующий о начале истребительных обработок, если аргументированно предполагается, что численность вредителя достигнет или превысит значения ЭУП, также выражаемый через соотношение  $rETR_{\max}$  между опытным и контрольным вариантами, оказался равным 1,1–1,2 усл. ед.*

*Авторы рекомендуют использовать предлагаемые инструментальные критерии вредности атлантического паутинного клеща на землянике. Мы полагаем, что этот подход можно использовать и в отношении других видов паутинных клещей, а также сосущих насекомых.*

**Ключевые слова:** паутинный клещ, *Tetranychidae*, экономический уровень поврежденности, экономический порог вредности, флуориметр, флуоресценция хлорофилла, относительная скорость электронного транспорта (*rETR*), земляника.

## Введение

В условиях Московской области атлантический паутинный клещ (*Tetranychus atlanticus* McGregor, 1941 (sensu Mitrofanov et al., 1987), Acari: Tetranychidae), которого нередко сводят в синоним туркестанского паутинного клеща (*Tetranychus turkestanii* Ugarov et Nikolski, 1937), является одним из основных вредителей земляники, регулярно приводящим к вспышкам массового размножения [6, 8, 9]. Он заселяет обширнейшую территорию России и часть Западной Европы [7, 9]. В связи с этим весьма важно оценивать характер и степень вредоносности этого вредителя.

Размножаясь в большом количестве, особи паутинных клещей приводят к потере хлорофилла и снижению фотосинтетической активности листьев повреждаемых растений [17, 18, 25, 28]. В листьях земляники, поврежденных паутинным клещом, наблюдаются следующие изменения фотосинтетического аппарата: трансформация структуры хлоропластов, уменьшение концентрации хлорофилла, частичное ингибирование фотосинтеза и проводимости устьиц, сокращение устьичной (в дневное время) транспирации и увеличение кутикулярной (в ночное время) транспирации. Повреждения приводят к преждевременному старению листьев и снижению в них содержания азота [14, 18]. Повреждение клеток происходит до проявления повреждения. Основным местом повреждения при питании паутинного клеща может быть пул пластохинонов (QA), который играет важную роль в переносе электронов во время фотосинтеза [15].

Выяснили, что при малой плотности клещевого поражения, когда уровень повреждения листовой пластинки невелик, оводненность листьев в большей степени зависит от активности питания клеща, нежели от площади повреждения листа; наблюдаемое снижение суммарного содержания антиоксидантов и одновременное увеличение светосуммы высокотемпературной полосы термолюминесценции может свидетельствовать о деградации мембранных липидов в результате окислительного стресса [13]. Также изучено изменение люминесцентных характеристик и суммарного содержания антиоксидантов в листьях садовой земляники (*Fragaria × ananassa* Duch.) сорта Ред Гонтлет при поражении их атлантическим паутинным клещом [1]. На ранней стадии повреждения растений клещом содержание хлорофилла не менялось, но при этом снижалось суммарное содержание антиоксидантов и происходила деградация мембранных липидов в результате окислительного стресса. Наблюдаемая кинетика нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла объяснялась слабым разобщающим действием клещевого повреждения на тилакоидные мембраны с частичным увеличением их проницаемости [1].

Характер повреждения растений паутинными клещами исследовался разными методами. Пороги вредоносности широко распространенных видов паутинных клещей на разных культурах были весьма контрастными. Например, на сое за экономический уровень поврежденности обыкновенного паутинного клеща (*Tetranychus urticae* Koch) (EIL – economic injury level) в условиях Бразилии принимали 13% хлороза поверхности листа [29]. На той же культуре EIL оценивали как проявление начальных симптомов в виде желтой окраски, при этом было подсчитано, что в условиях Бразилии плотность популяции обыкновенного паутинного клеща (из расчета 1 клещ на 1 см<sup>2</sup> вызывала сокращение 1 стручка на растение, две зерновки в стручке, снижение урожайности с 1 га на 4,2 кг [24]. Земляника как сельскохозяйственная культура была признана чрезвычайно выносливой к повреждениям паутинного клеща. В специальном эксперименте в условиях штата Нью-Йорк (США) исследователи не смогли обнаружить влияние плотности популяции обыкновенного паутинного клеща (*T. urticae*) при 10 особях на листовую пластинку на урожайность. Исследователи предположили, что для определения EIL пороговые значения вредителя могут быть повышены по крайней мере до 10, чтобы химическая обработка оказалась оправданной [19].

В отечественных ранних исследованиях поврежденность листьев растений традиционно оценивалась в баллах поврежденности. Согласно исследованиям С.Я. Попова (2003) [8] за 2 балла принимали поврежденность листовой пластинки тройчатого листа земляники в пределах 6–25%, за 3 балла – 26–50%, за 4 балла – 51–75%, за 5 баллов – свыше 75%. Им же было высказано мнение о том, что при численности 30 постэмбриональных особей паутинного клеща на листовую пластинку земляники степень поврежденности листьев не превышала трех баллов, и это практически не уменьшало урожайность этой толерантной культуры [8]. Степень поврежденности листьев, соответствующая 4 и 5 баллам, проявлялась при численности паутинных клещей около 40 постэмбриональных особей в расчете на 1 листовую пластинку [8]. Данный экспериментально полученный показатель, зафиксированный в период роста плодов земляники, мог служить своего рода эталоном при измерении физиологических показателей поврежденности листьев земляники. Однако все это относилось к визуальным способам оценки поврежденности растений паутинными клещами.

Заслуживают внимания разработанная спектральная классификация плотности популяции клеща и класса плотности популяции клеща и использование спектроскопии видимого/ближнего инфракрасного отражения (VNIR) для обнаружения повреждения обыкновенного паутинного клеща (*T. urticae*) (Acari: Tetranychidae) на землянике [20]. Широко развиваются технологии удаленного мониторинга [31]. Например, заявлен метод обработки изображений, сделанных камерой, для определения уровня повреждений огурца в теплице, вызванных обыкновенным паутинным клещом (*T. urticae*), при разной численности особей [30].

Среди классических инструментальных методов оценки поврежденности все более широко распространяется метод флуоресценции хлорофилла [1, 16, 21, 22, 23]. Это обусловлено тем, что наблюдаемые симптомы повреждения листьев паутинными клещами на начальном этапе повреждения могут быть неспецифичными, а методы биохимического анализа и термолюминесценции приводят к разрушению образца, являясь при этом трудоемкими и дорогими [13]. При регистрации флуоресценции хлорофилла образец не разрушается, поэтому данный метод может применяться для диагностики физиологического состояния растений в различных условиях [3, 12]. Однако вплоть до наших исследований интерпретация показателей флуоресценции хлорофилла в отношении оценки вредоносности паутинных клещей рода *Tetranychus* была достаточно пестрой и противоречивой.

В предварительных исследованиях выбора показателя степени повреждения листьев земляники паутинными клещами нами использовались три параметра: величина  $Y(II)$  (действительный квантовый выход фотохимических реакций в ФС II на свету), величина NPQ (нефотохимическое тушение флуоресценции) и величина  $rETR$  (относительная скорость электронного транспорта). В рамках этих исследований выяснили, что величина максимальной относительной скорости электронного транспорта ( $rETR_{max}$ ) более чувствительна к повреждению, чем остальные названные величины. На ее использовании мы и остановились [4, 5, 10].

### Материал и методика исследований

Объектом исследований являлся атлантический паутинный клещ *Tetranychus atlanticus* McGregor, 1941 (sensu Mitrofanov et al., 1987) (Acari: Tetranychidae) [2], обитающий на травянистых растениях на большой территории России, в том числе заселяющий плантации земляники садовой ЗАО «Совхоз им. Ленина» Ленинского района Московской области.

Исследования степени поврежденности листьев земляники садовой паутинным клещом с целью оценки на основе инструментального физиологического критерия

проводили в заданных лабораторных условиях и на выделенном весной экспериментальном участке размером 20 × 30 м промышленной плантации земляники в полевых условиях на территории ЗАО «Совхоз им. Ленина» Ленинского района Московской области; здесь же фиксировали и динамику численности популяции паутиного клеща.

В лабораторных условиях (температура воздуха –  $22 \pm 2$  °С, относительная влажность воздуха –  $75 \pm 10\%$ , фотопериод (L: D) – 16:8 ч) растения земляники выращивали в пластиковых контейнерах на удобренном почвенно-торфяном субстрате. Растения земляники сорта Царица с полностью раскрывшимися листовыми пластинками заселяли половозрелыми самками атлантического паутиного клеща из расчета 1 самка/листовая пластинка. Динамику численности особей паутиного клеща регистрировали один раз в каждые 3 дня [10]. Оценку реакции земляники на поврежденность со стороны паутиных клещей проводили на основе определения флуоресценции хлорофилла. В качестве инструментального критерия использовали величину относительной скорости электронного транспорта (rETR), которая показала большую чувствительность по сравнению с другими подобными показателями: действительным квантовым выходом фотохимических реакций в ФС II на свету (Y(II)) и нефотохимическим тушением флуоресценции (NPQ) [4, 5, 10].

Измерения флуоресценции хлорофилла в листьях осуществляли с помощью РАМ-флуориметра модели JUNIOR-PAM [4]. Ее величины легли в основу инструментального критерия экономического уровня поврежденности (ЭУП) (economical injury level – EIL) и экономического порога вредоносности (ЭПВ) (economical threshold – ET).

Отметим, что первый показатель показывает экономически значимую степень повреждения, а второй служит показателем, сигнализирующим о начале истребительных обработок, если аргументированно предполагается, что численность вредителя достигнет или превысит значения ЭУП [11, 27, 26].

Несмотря на то, что EIL можно рассчитывать, включая в формулу расчета стоимостные характеристики [24], мы остановились на степени повреждения листьев, соответствующей 4 и 5 баллам, которая проявляется при численности паутиных клещей около 40 постэмбриональных особей в расчете на 1 листовую пластинку тройчатого листа земляники [8].

В полевых условиях сезонную динамику численности паутиных клещей и степень поврежденности листьев с их стороны фиксировали на сортах садовой земляники Ред Гонтлет и Хоней в 2014–2015 гг. Погодные условия в указанные вегетационные сезоны являлись благоприятными для развития и размножения паутиных клещей на землянике.

Отбор поврежденных и неповрежденных одновозрастных полностью сформированных листьев земляники осуществляли еженедельно, начиная с третьей декады мая, когда завершался рост новых весенних листьев. Флуоресцентные показатели измеряли на приборе JUNIOR-PAM (Heinz Walz, Германия) и производили расчет величины относительной скорости электронного транспорта (rETR) на указанных двух категориях листьев согласно работе К. Максвелла и Дж.Н. Джонсона (Maxwell K., Johnson G.N., 2000) [23]. При этом тестируемые образцы предварительно адаптировали к темноте в течение 30 мин. В те же дни под бинокулярным микроскопом подсчитывали плотность популяции паутиных клещей в среднем на 50 листьях. При этом регистрировали все возрастные стадии паутиного клеща, постэмбриональных особей, повреждающих растение-хозяина, суммировали.

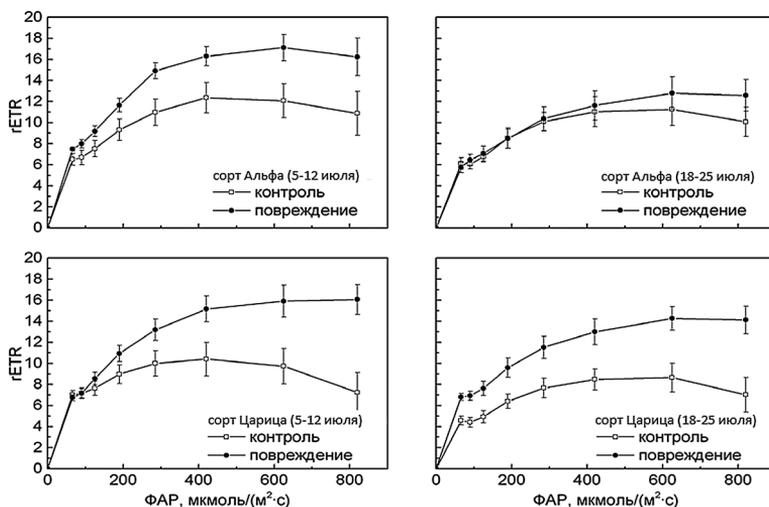
## Результаты и их обсуждение

Результаты наших исследований, включающие в себя динамику численности паутиных клещей на землянике и динамику rETR в лабораторных и полевых условиях, частично изложены в работах [4, 5, 10]. Однако в них не указаны измеренные величины

относительной скорости электронного транспорта (gETR), на основе которых можно осуществить расчеты экономического уровня поврежденности (ЭУП) и экономического порога вредоносности (ЭПВ). В связи с этим нами вновь представлены рисунки, частично изложенные ранее [10], однако теперь в них введены величины gETR по мере нарастания численности паутинных клещей и степени поврежденности листьев земляники садовой.

В лабораторных условиях были получены следующие значения gETR (рис. 1).

Величина максимальной относительной скорости электронного транспорта ( $gETR_{max}$ ), зафиксированная на поврежденных паутинным клещом листьях земляники сорта Царица с 5 по 12 июля при численности от 6,2 до 18,5 постэмбриональных особей клеща на листовую пластинку, составила 15,9 усл. ед., тогда как на неповрежденных листьях (контроль) – 10,3 усл. ед. Тогда показатель соотношения  $gETR_{max}$  опытного и контрольного вариантов составит 1,54.



**Рис. 1.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта (gETR) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР)

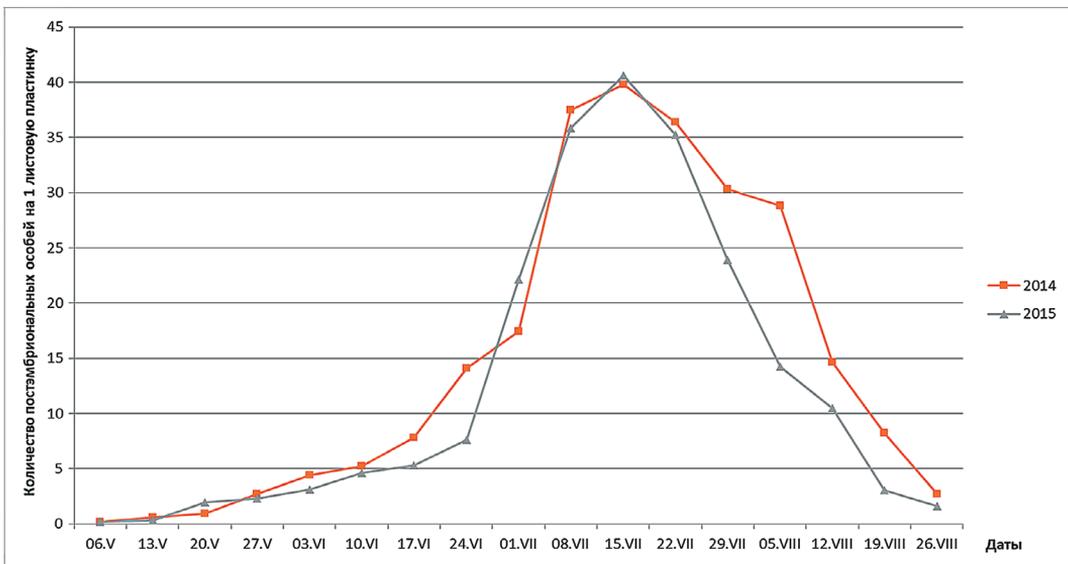
На листьях земляники с 18 по 25 июля при численности от 31,5 до 40,4 постэмбриональных особей клеща на листовую пластинку  $gETR_{max}$  на поврежденных листьях составила 14,1 усл. ед., тогда как в контроле – 8,7 усл. ед. Тогда показатель соотношения  $gETR_{max}$  опытного и контрольного вариантов соответствует 1,62. Отсюда следует, что экономический уровень поврежденности предварительно может быть принят равным указанному числу – 1,62. (Акцентируем внимание на том, что указанный ЭУП проявился при плотности колонии клещей 40 постэмбриональных особей на 1 листовую пластинку.)

Далее этот показатель флуоресценции был исследован в полевых условиях на экспериментальном участке промышленной плантации земляники ЗАО «Совхоз им. Ленина». Приведем данные динамики численности атлантического паутинного клеща в 2014 г. на сорте земляники Ред Гонтлет и в 2015 г. – на сорте Хоней. Одновременно предоставим измерения gETR начиная со второй декады июня указанных сезонов.

Перезимовавшие самки атлантического паутинного клеща традиционно для Московской области начинали реактивироваться и питаться на листьях земляники в третьей декаде апреля при наступлении максимальных дневных температур воздуха 13–14°C [7] (рис. 2). Самцы и самки нового поколения в массе отрождались в конце мая-середине июня. Благодаря этому далее происходило значительное увеличение их численности. Однако до второй декады июня ввиду невысоких температур, а также вертикального ярусного перераспределения клещей по растению плотность популяций паутинного

клеща повышалась незначительно, составив от 5 до 7,5 особей/листочек. С приходом более высоких температур максимальная численность фитофага в 2014 и 2015 гг. к середине июля достигала 39,8 и 40,6 постэмбриональных особей в расчете на листовую пластинку земляники в среднем соответственно (рис. 2). После достижения пика численность паутиных клещей равномерно снижалась. К середине третьей декады августа вследствие уменьшения фотопериода появлялись диапаузирующие самки, и популяции в целом завершали свою вредоносную деятельность на растениях.

Что касается повреждаемости листьев земляники со стороны атлантического паутинового клеща, то в весенний и раннелетний периоды в связи с низкой плотностью популяции симптомы повреждения практически отсутствуют. По мере размножения особей в вогнутых впадинах листьев, где концентрируются и питаются особи фитофага, проявляются некротические пятна, которые со временем увеличиваются и могут сливаться.



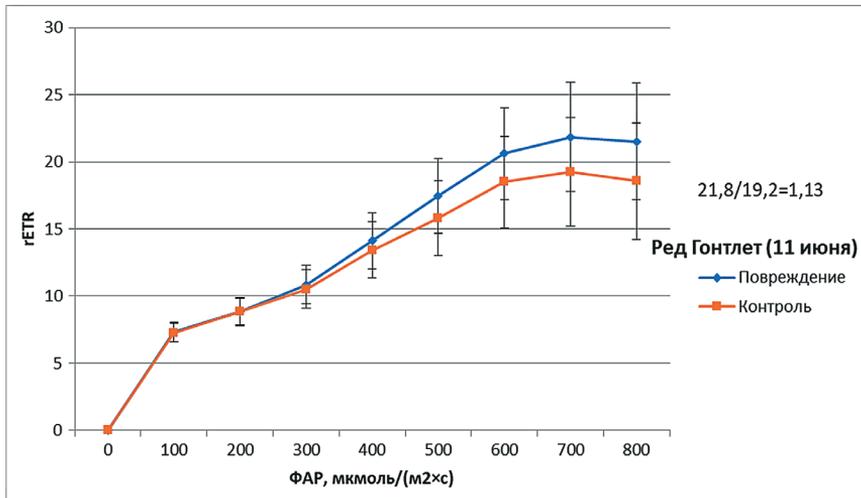
**Рис. 2.** Динамика численности атлантического паутинового клеща на плантациях земляники в 2014–2015 гг., ЗАО «Совхоз им. Ленина» Ленинского района Московской области

В 2014 г. флуоресцентные характеристики листьев, повреждаемых паутиным клещом, выражаемые через показатель гETR, измеряли с 11 июня по 23 июля. Как уже отмечалось, в качестве контроля использовали листья без наличия паутиных клещей и визуальных признаков повреждения.

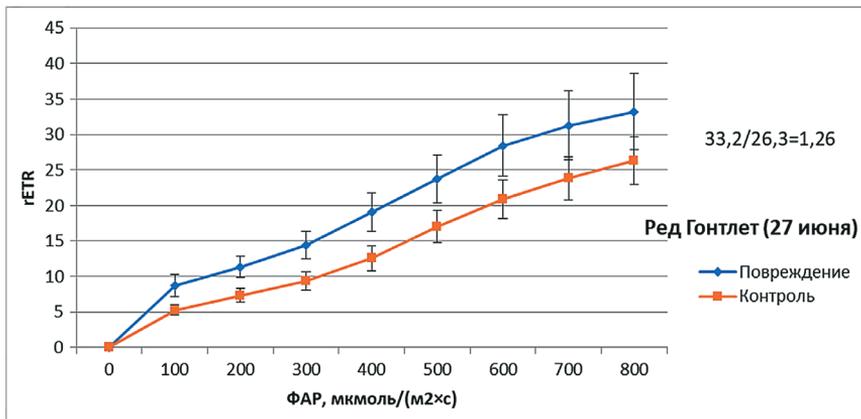
На рисунках 3–7 приведены величины скорости электронного транспорта (гETR) в период проявления видимой вредоносности атлантического паутинового клеща на листьях земляники садовой сорта Ред Гонтлет в 2014 г.

Как следует из рисунка 3, максимальная относительная скорость электронного транспорта (гETR<sub>max</sub>) на 11 июня 2014 г. при численности паутиных клещей, равной 5,2 постэмбриональных особей на листовую пластинку, на поврежденных листьях оказалась равной 21,8 усл. ед., тогда как на контрольных листьях – 19,2 усл. ед. Показатель соотношения гETR<sub>max</sub> опытного и контрольного вариантов составил 1,13.

На 27 июня 2014 г. на поврежденных листьях при плотности популяции паутинового клеща, равной 14,6 постэмбриональных особей на листовую пластинку, этот показатель оказался равным 33,2 усл. ед., на контрольных листьях – 26,3 усл. ед. Соответственно показатель соотношения гETR<sub>max</sub> опытного и контрольного вариантов оказался равным 1,26 (рис. 4).



**Рис. 3.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта (rETR) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) на землянике 11 июня 2014 г.

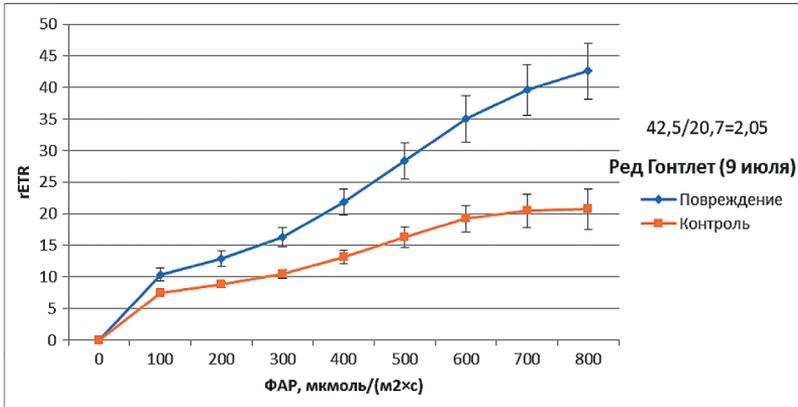


**Рис. 4.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта (rETR) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) на землянике 27 июня 2014 г.

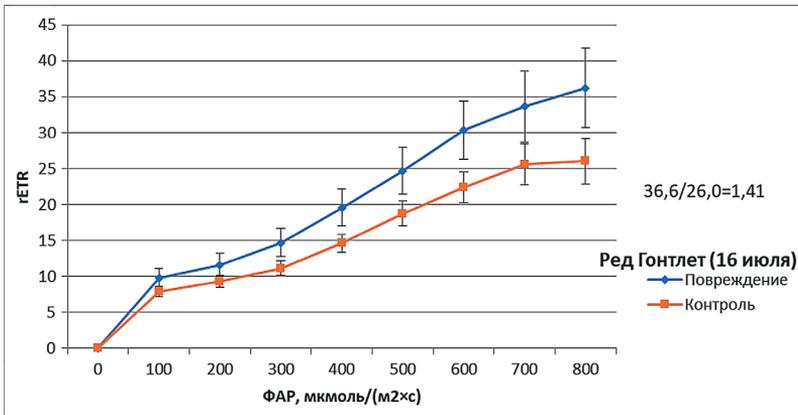
На 9 июля 2014 г. вследствие отрастания новой летней волны листьев на поврежденных весенних листьях при плотности популяции *T. atlanticus*, равной 37,5 постэмбриональных особей на листовую пластинку, этот показатель составил 42,5 усл. ед., тогда как на контрольных новых листьях – 20,7 усл. ед. (рис. 5). Показатель соотношения  $rETR_{\text{max}}$  опытного и контрольного вариантов составил 2,05.

На рисунке 6 представлены различия rETR на 16 июля 2014 г. На поврежденных листьях при численности клещей 39,8 постэмбриональных особей на листовую пластинку этот показатель оказался равным 36,6 усл. ед., на контрольных листьях – 26,0 усл. ед. Тогда показатель соотношения  $rETR_{\text{max}}$  опытного и контрольного вариантов соответствует 1,41.

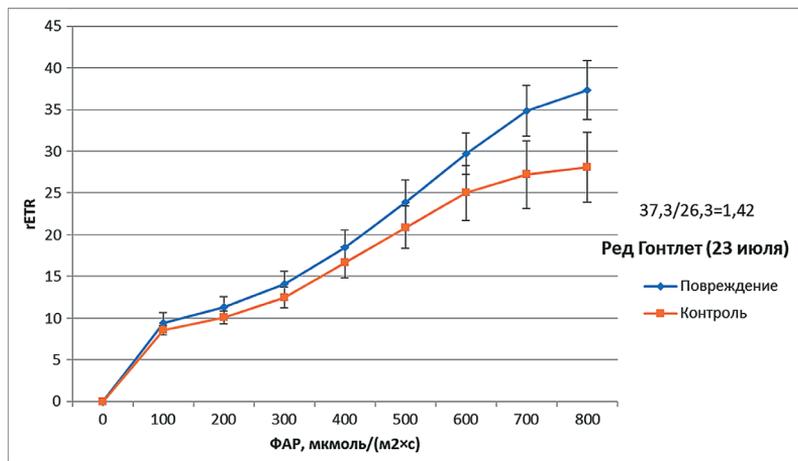
На рисунке 7 представлены различия rETR 23 июля 2014 г. На поврежденных листьях при плотности клещей 36,4 постэмбриональных особей на листовую пластинку  $rETR_{\text{max}}$  достиг 37,3 усл. ед., на контрольных листьях – 26,3 усл. ед. Соответственно соотношение двух показателей оказалось равным 1,42.



**Рис. 5.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта (rETR) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) на землянике 9 июля 2014 г.

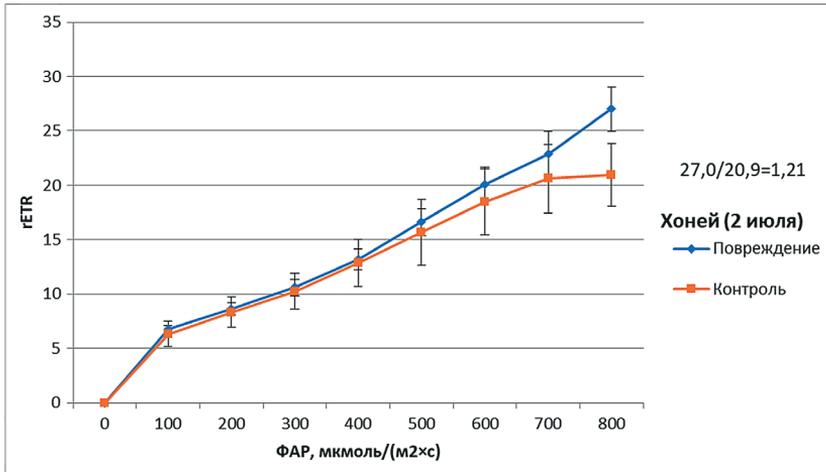


**Рис. 6.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта (rETR) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) на землянике 16 июля 2014 г.

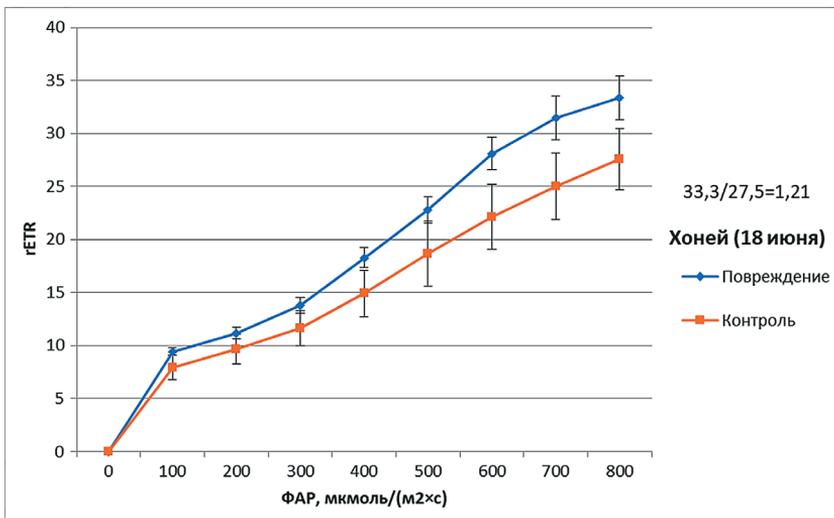


**Рис. 7.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта (rETR) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) на землянике 23 июля 2014 г.

В 2015 г. на экспериментальном участке промышленной плантации земляники ЗАО «Совхоз им. Ленина» на сорте Хоней также пик динамики численности популяции атлантического паутиного клеща пришелся на середину июля, а плотность популяции, приближенная к пороговому значению, отмечалась с 8 по 22 июля. По аналогии с 2014 г. по каждому учету, с 18 июня до 16 июля, приведены флуоресцентные характеристики повреждаемых вредителем и свободных от него листьев (рис. 8–13).



**Рис. 8.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта (rETR) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) на землянике 18 июня 2015 г.



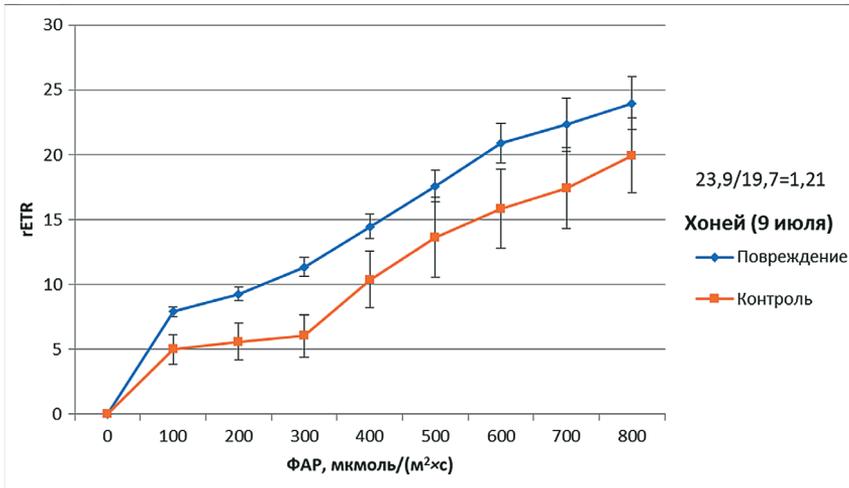
**Рис. 9.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта (rETR) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) на землянике 2 июля 2015 г.

На рисунке 8 представлены скорости электронного транспорта на 18 июня. На эту дату плотность популяции атлантического паутиного клеща составила 5,3 постмбриональных особей в расчете на листовую пластинку.

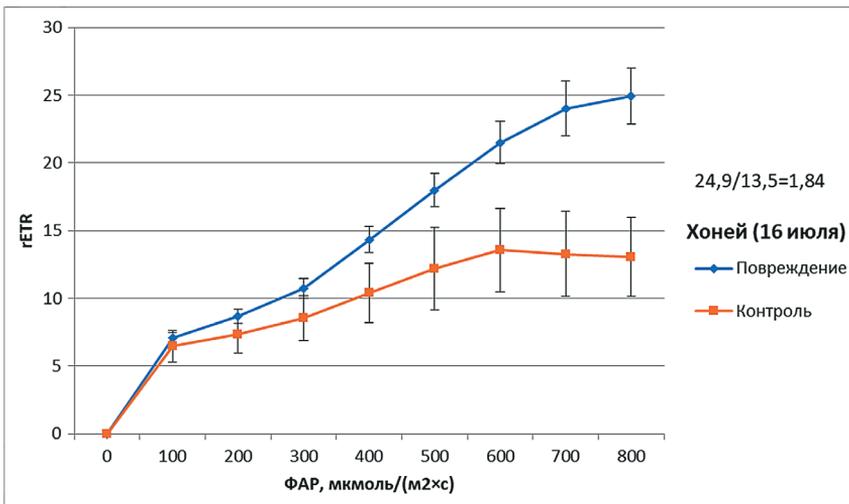
Показатель  $rETR_{\text{max}}$  на поврежденных листьях составил 33,3 усл. ед., на контрольных листьях – 27,5 усл. ед. Показатель соотношения  $rETR_{\text{max}}$  опытного

и контрольного вариантов оказался равным 1,21. Последний показатель сопоставим с таковыми в 2014 г., пришедшимися на сорте Ред Гонтлет, на 11 июня и 27 июня.

На рисунке 9 представлены величины  $rETR$  на 2 июля 2015 г. В варианте с поврежденными листьями земляники скорость электронного транспорта ( $rETR_{max}$ ) при численности постэмбриональных особей 22,1 в расчете на листовую пластинку составила 27,0 усл. ед., тогда как в контрольном варианте – 20,9 усл. ед. Соответственно соотношение этих двух величин в опытном и контрольном варианте оказалось равным 1,21.



**Рис. 10.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта ( $rETR$ ) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) на землянике 9 июля 2015 г.

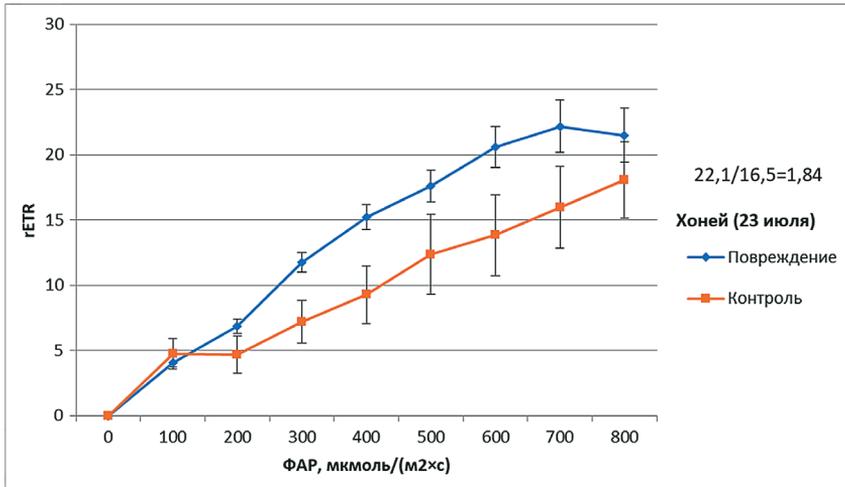


**Рис. 11.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта ( $rETR$ ) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) землянике 16 июля 2015 г.

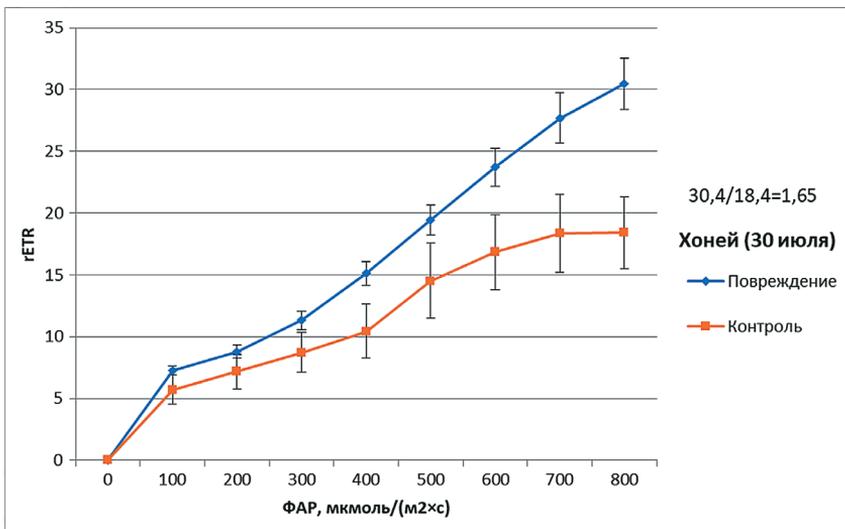
На рисунке 10 изображены величины  $rETR$  в опытном и контрольном вариантах на 9 июля 2015 г. На листьях с клещами при плотности популяции *T. atlantica*, равной 35,8 постэмбриональных особей в расчете на листовую пластинку, этот

показатель был равен 23,9 усл. ед., на контрольных листьях – 19,7 усл. ед. Показатель соотношения  $gETR_{max}$  опытного и контрольного вариантов составил 1,21.

На 16 июля 2015 г. величина  $gETR_{max}$  на поврежденных листьях при плотности популяции *T. atlanticus*, равной 40,6 постэмбриональных особей на листовую пластинку, показала 24,9 усл. ед., на контрольных листьях – 13,5 усл. ед. (рис. 11). Показатель соотношения  $gETR_{max}$  опытного и контрольного вариантов составил 1,84.



**Рис. 12.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта ( $gETR$ ) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) на землянике 23 июля 2015 г.



**Рис. 13.** Влияние клещевого повреждения на относительную скорость электронного транспорта ( $gETR$ ) при разной интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) на землянике 30 июля 2015 г.

Как следует из рисунка 12, эти же показатели на 23 июля 2015 г. при плотности популяции атлантического паутиного клеща 35,2 постэмбриональных особей в расчете на листовую пластинку земляники составили 22,1 и 16,5 усл. ед. соответственно. Показатель соотношения  $gETR_{max}$  опытного и контрольного вариантов составил 1,84.

На рисунке 13 представлены различия гЕТР на 30 июля 2015 г. На поврежденных листьях при плотности популяции *T. atlanticus*, равной 23,9 постэмбриональных особей на листовую пластинку, этот показатель равен 30,4 усл. ед., на контрольных листьях – 18,4 усл. ед. Тогда показатель соотношения гЕТР<sub>max</sub> опытного и контрольного вариантов составит 1,65.

### Выводы

В лабораторных условиях максимальная относительная скорость электронного транспорта (гЕТР<sub>max</sub>) на поврежденных листьях имела меньшие значения, чем в полевых условиях, где листья подвергались разнонаправленному действию множества факторов и где клещевое повреждение являлось одним из них. Поэтому по величинам гЕТР<sub>max</sub> на поврежденных листьях расчет ЭУП может привести к занижению последнего. Однако показатель соотношения гЕТР<sub>max</sub> между опытным и контрольным вариантами вполне можно принимать в расчет, поскольку опытные и контрольные растения подвергались одинаковому воздействию остальных факторов, что позволяет вычленивать воздействие паутинного клеща.

В полевых условиях максимальная относительная скорость электронного транспорта (гЕТР<sub>max</sub>) на поврежденных листьях при плотности популяции паутинных клещей, близкой к ЭУП в наших исследованиях – от 30 до 40 особей в расчете на листовую пластинку), скорее всего зависела от сорта земляники. В частности, на сорте Ред Гонтлет величины гЕТР<sub>max</sub> на поврежденных клещами листьях соответствовали примерно 37 усл. ед., а соотношение гЕТР<sub>max</sub> между опытным и контрольным вариантами оказалось равным 1,4.

На сорте Хоней величины гЕТР<sub>max</sub> на поврежденных клещами листьях в среднем находятся в пределах от 22 до 30,4 усл. ед., а соотношение гЕТР<sub>max</sub> между опытным и контрольным вариантами – в пределах от 1,6 до 1,8 усл. ед. На раннем учете, когда, например, весенние листья отживают и грубеют от возраста, величина гЕТР<sub>max</sub> на поврежденных клещами листьях, даже когда плотность популяции паутинных клещей только достигает пиковых значений, может незначительно превышать такую на неповрежденных клещами листьях (легкое стресс-стимулирующее действие), как это показал учет на 27 июня 2015 г. В этом случае величина гЕТР<sub>max</sub> на поврежденных клещами листьях оказывается в пределах диапазона значений, но соотношение гЕТР<sub>max</sub> между опытным и контрольным вариантами может быть заниженным.

Если инструментальный критерий оценивать в диапазоне экспериментально полученных нами величин гЕТР<sub>max</sub>, находящихся в пределах от 22 до 30 усл. ед., зафиксированных на поврежденных паутинными клещами листьях, что соответствует экономическому уровню поврежденности листьев земляники (ЭУП), то инструментальный критерий, выражаемый через соотношение гЕТР<sub>max</sub> между опытным и контрольным вариантами, окажется в пределах от 1,4 до 2,0 усл. ед. Отметим, что последний показатель сопоставим с исследованием, выполненным в лабораторных условиях (1,6).

В случае руководства рекомендацией, заключающейся в том, что экономический порог вредности (ЭПВ), служащий сигналом к истребительной обработке вредителя, как правило, должен соответствовать 5–7 постэмбриональным особям на листовую пластинку ягодной и плодовой культуры, то, по полученным экспериментальным измерениям 2014 г., показатель соотношения гЕТР<sub>max</sub> опытного и контрольного вариантов должен соответствовать 1,13. В 2015 г. при плотности популяции *T. atlanticus* 5,3 постэмбриональных особей в расчете на листовую пластинку на 18 июня данный показатель достигал величины 1,21. Из этого следует, что ЭПВ

через показатель соотношения  $gETR_{max}$  опытного и контрольного вариантов в зависимости от сорта можно обозначать в пределах 1,1–1,2.

Авторы рекомендуют использовать предлагаемые инструментальные критерии вредоносности атлантического паутинного клеща на землянике. Мы полагаем, что этот подход можно использовать и в отношении других видов паутинных клещей, а также сосущих насекомых.

### Библиографический список

1. Байков А.А., Караваяев В.А., Попов С.Я., Квитка А.Ю., Левыкина И.П., Солнцев М.К., Тихонов А.Н. Люминесцентные характеристики листьев земляники на ранних стадиях повреждения растений паутинным клещом // Биофизика. – 2013. – Т. 58, № 2. – С. 321–328.
2. Митрофанов В.И., Стрункова З.И., Лившиц И.З. Определитель тетраниховых клещей фауны СССР и сопредельных стран: М. – Душанбе: Дониш, 1987. – 224 с.
3. Пахненко Е.П., Вацадзе Н.С., Глазунова С.А., Караваяев В.А., Байков А.А., Солнцев М.К. Ранняя диагностика физиологического состояния растений люминесцентными методами при разных условиях питания // Вестник Московского университета. – Серия 17 «Почвоведение». – 2012. – № 2. – С. 8–13.
4. Пономаренко Е.К., Попов С.Я., Байков А.А., Гинс М.С. Инструментальная оценка поврежденности плодоносящей земляники паутинным клещом // Селекция и семеноводство овощных культур. – 2015. – № 46. – С. 468–474.
5. Пономаренко Е.К., Попов С.Я., Байков А.А. Физиологические аспекты повреждения растений паутинным клещом *Tetranychus atlanticus* McGregor // Сборник материалов Международной научной конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 150-летию РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. – 2015. – С. 65–67.
6. Попов С.Я. К идентификации местообитания паутинных клещей (Acari-formes, Tetranychidae) по биологическим показателям // Зоологический журнал. – 1994. – Т. 73, № 7–8. – С. 31–41.
7. Попов С.Я. Экологические основы ограничения численности и вредоносности основных вредителей плодоносящей земляники: малинно-земляничного долгоносика и паутинных клещей: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 1997. – 36 с.
8. Попов С.Я. Многолетние показатели сезонного развития паутинных клещей рода *Tetranychus* Dufour, 1832 (Acari-formes, Tetranychidae) на землянике в Московской области // Энтомологическое обозрение. – 2003. – Т. 82, № 1. – С. 71–85.
9. Попов С.Я. Таксономический статус ряда видов паутинных клещей рода *Tetranychus* (Acari, Tetranychidae) и репродуктивные барьеры при скрещивании морфологически близких и отдаленных видов // Экологические аспекты ограничения вредоносности популяций насекомых и клещей. – М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2013. – С. 224–259.
10. Попов С.Я., Пономаренко Е.К., Гинс М.С., Байков А.А. Анализ различных параметров флуоресценции хлорофилла в листьях земляники садовой при повреждении атлантическим паутинным клещом *Tetranychus atlanticus* McGregor // Плодоводство и ягодоводство России. – 2016. – Т. XXXXVI. – С. 323–329.
11. Попов С.Я., Попова Т.А. Новые подходы к концепции экономического порога вредоносности в интегрированной защите растений // Материалы XV съезда Русского энтомологического общества, Новосибирск, 31 июля – 7 августа 2017 г. – Новосибирск: «Издательство Гарамонд», 2017. – С. 400–401.
12. Шафигуллин Д.Р., Байков А.А., Гинс М.С., Пронина Е.П., Пивоваров В.Ф., Солдатенко А.В., Романова Е.В. Связь индукционных изменений флуоресцентных

- показателей листьев сои *Glycine max* (L.) Merr. с биохимическими характеристиками и продуктивностью // Биофизика. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 338–349.
13. *Baikov A.A., Kvitka A.Yu., Popov S.Ya., Gins M.S., Solntsev M.K.* Effects of biotic stress (spider mite injury) on leaf water status, total antioxidant capacity and lipid peroxidation in strawberry plants // *Izvestiya TSKhA.* – 2012. – Special issue. – Pp. 113–115.
14. *Bondada B.R., Oosterhuis D.M., Tugwell N.P., Kim K.S.* Physiological and cytological studies of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, injury in cotton // *Southwestern Entomologist.* – 1995. – V. 20. – Pp. 171–180.
15. *Bounfour M., Tanigoshi L.K., Chen C., Cameron S.J., Klauer S.* Chlorophyll content and chlorophyll fluorescence in red raspberry leaves infested with *Tetranychus urticae* and *Eotetranychus carpini borealis* (Acari: Tetranychidae) // *Environmental Entomology.* – 2002. – V. 31, № 2. – Pp. 215–220.
16. *Bueno A.F., Bueno R.C.O.F., Nabity P.D., Higley L.G., Fernandes O.A.* Photosynthetic response of soybean to twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) injury // *Brazilian archives of biology and technology.* – 2009. – V. 52, № 4. – Pp. 825–834.
17. *Chacon-Hernandez J.C., Camacho-Aguilar I., Cerna-Chavez E., Ordaz-Silva S., Ochoa-Fuentes Y.M., Landeros-Flores J.* Effects of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Tetranychidae: Phytoseiidae) on the chlorophyll of rose plants (*Rosa* sp.) // *Agrociencia.* – 2018. – V. 52, № 6. – Pp. 895–909.
18. *De Angelis J.D., Larson K.C., Berry R.E., Krantz G.W.* Effects of spider mite injury to transpiration and leaf water status in peppermint // *Environ. Entomol.* – 1982. – V. 11. – Pp. 975–978.
19. *English-Loeb G., Hesler S.* Economic impact of the two-spotted spider mites (*Tetranychus urticae*) on strawberries grown as a perennial // *New York fruit quarterly.* – 2004. – V. 12, № 4. – Pp. 17–20.
20. *Fraulo A.B., Cohen M., Liburd O.E.* Visible/near infrared reflectance (VNIR) spectroscopy for detecting twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) damage in strawberries // *Environmental Entomology.* – 2009. – V. 38, Is. 1. – Pp. 137–142.
21. *Latrou G., Cook C.M., Stamou G., Lanaras T.* Chlorophyll fluorescence and leaf chlorophyll content of bean leaves injured by spider-mites (Acari: Tetranychidae) // *Exp. Appl. Acarol.* – 1995. – V. 19. – Pp. 581–591.
22. *Makaraci A.Z., Flore J.A.* Determination of physical damage thresholds of strawberry leaves (*Fragaria* × *ananassa* cv. Honeoye) // *Journal of Food, Agriculture & Environment.* – 2012. – V.10, № 1. – Pp. 376–380.
23. *Maxwell K., Johnson G.N.* Chlorophyll fluorescence – a practical guide // *J. Exper. Botany.* – 2000. – V. 51. – Pp. 659–668.
24. *Padilha G., Fiorin R.A., Filho A.C., Pozebon H., Rogers J., Marques R.P., Castilhos L.B., Donatti A., Stefanelo L., Burtet L.M., Stacke R.F., Guedes J.V.C., Arne-mann J.A.* Damage assessment and economic injury level of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* in soybean // *Pesq. Agropec. Bras., Brasília.* – 2020. – V. 55.
25. *Park Y. – L., Lee J. – H.* Leaf cell and tissue damage of cucumber caused by twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) // *Econ. Entomol.* – 2002. – V. 95, № 5. – Pp. 952–957.
26. *Pedigo L.P., Rice M.E., Krell R.K.* Entomology and pest management. 7-th ed. Long Grove, IL: Waveland Press, Inc., 2021. – 584 p.
27. *Popov S.Ya.* Economic injury level and economic threshold in IPM for strawberries / XXV International Congress of Entomology. 25–30 th September, 2016. – Orlando (USA).

28. Sances F.V., Wyman J.A., Ting J.P., van Steenwyk R.A., Oatman E.R. Spider mite interactions with photosynthesis, transpiration and productivity of strawberry // *Environ. Entomol.* – 1981. – V. 10. – Pp. 442–448.

29. Suekane R., Degrande P.E., de Melo E.P., Bertonecello T.F., dos Santos de Lima Junior I., Kodama C. Damage level of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in soybeans // *Revista Ceres.* – 2012. – V. 59, № 1. – Pp. 77–81.

30. Uygun T., Ozguven M.M., Yanar D. A new approach to monitor and assess the damage caused by two-spotted spider mite // *Exp. and Appl. Acarol.* – 2020. – V. 82. – Pp. 335–346.

31. Zhang J., Huang Y., Pu R., Gonzalez-Moreno P., Yuan L., Wu K., Huang W. Monitoring plant diseases and pests through remote sensing technology: A review // *Computers and Electronics in Agriculture.* – 2019. – V. 165.

## INSTRUMENTAL ECONOMIC INJURY LEVEL AND ECONOMIC THRESHOLD OF SPIDER MITE POPULATIONS ON STRAWBERRIES

E.K. PONOMARENKO, S.YA. POPOV<sup>1</sup>, A.A. BAYKOV<sup>2</sup>, M.S. GINS<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy,  
<sup>2</sup> Federal Scientific Vegetable Center)

*Spider mites of the genus Tetranychus are universally one of the significant pests that damage garden strawberries and many other crops. One of the important problems of the pest population management is to be able to identify the thresholds of this pest, which, when feeding, causes a change in the color of plant leaves.*

*Since it is very difficult to determine visually the level of leaf damage by spider mites, the authors of the study turned to the previously substantiated instrumental method for assessing damage using the relative electron transport rate (rETR) based on chlorophyll fluorescence detection in the leaf. Instrumental thresholds of pest damage were calculated: the economic injury level (EIL) and the economic threshold (ET).*

*Studies were carried out in the laboratory on the leaves of strawberry grown in containers at temperature of  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , relative humidity of  $75 \pm 10\%$ , photoperiod (L : D) 16:8 h, as well as on the experimental plot of the strawberry plantation of JSC “Lenin Sovkhoz” (Moscow region); registration of the population dynamics of spider mites on the leaves being made. At the same time, using the JUNIOR-PAM fluorimeter (Heinz Walz, Germany), the dynamics of chlorophyll fluorescence in the leaves of the control (without mites) and experimental (damaged by mites) variants were measured.*

*As a result, two varieties of industrial strawberries obtained a range of variation of the numerical physiological index, expressed in terms of the ratio of  $rETR_{\max}$  between the experimental and control variants, equal to 1.4–2.0 conventional units, which corresponded to the economic injury level (EIL) of strawberry leaves. The latter trait was comparable to the same parameter obtained in the laboratory – 1.6. The economic threshold (ET), which signals the beginning of pesticide treatments, if it is reasonably expected that the number of pests will reach or exceed the value of EIL, also expressed in terms of the ratio of  $rETR_{\max}$  between the experimental and control variants, turned out to be equal to 1.1–1.2 conventional units.*

*The authors recommend using the proposed instrumental criteria for the harmfulness of the Atlantic spider mite on strawberries. We believe that this approach can be applied to other species of spider mites, as well as sucking insects.*

**Key words:** spider mite, Tetranychidae, economic injury level (EIL), economic threshold (ET), fluorimeter, chlorophyll fluorescence, relative electron transport rate (rETR), strawberry.

## References

1. Baikov A.A., Karavaev V.A., Popov S.Ya., Kvitka A.Yu., Levykina I.P., Solntsev M.K., Tikhonov A.N. Lyuminesstentnye kharakteristiki list'ev zemlyaniki na rannikh stadiyakh povrezhdeniya rasteniy pautinnym kleshchom [Luminescence characteristics of strawberry leaves at early stages of injury by spider mite]. *Biofizika*. 2013. 58 (2): 234–239. (In Rus.)
2. Mitrofanov V.I., Strunkova Z.I., Livshits I.Z. Opredelitel' tetranykhovykh kleshchey fauny SSSR i sopredel'nykh stran. [Determination of tetranychid mites from USSR and bordering countries]. Dushanbe: Donish, 1987: 224. (In Rus.)
3. Pakhnenko E.P., Vatsadze N.S., Glasunova S.A., Karavaev V.A., Baikov A.A., Solntsev M.K. Rannyya diagnostika fiziologicheskogo sostoyaniya rasteniy lyuminesstentnymi metodami pri raznykh usloviyakh pitaniya [Early diagnostics of physiological state of plants under various nutrition conditions using luminescent methods]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Ser. 17: Pochvovedenie*. 2012. 67 (2): 60–64. (In Rus.)
4. Ponomarenko E.K., Popov S.Ya., Baikov A.A., Gins M.S. Instrumental'naya otsenka povrezhdenosti plodonosyashchey zemlyaniki pautinnym kleshchom. [Instrumental assessment of damage to fruit-bearing strawberries by spider mites]. *Selektsiya i semenovodstvo*. 2015; 46: 468–474. (In Rus.)
5. Ponomarenko E.K., Popov S.Ya., Baikov A.A. Fiziologicheskie aspekty povrezhdeniya rasteniy pautinnym kleshchom *Tetranychus atlanticus* McGregor [Physiological aspects of strawberry plants damage by the spider mite *Tetranychus atlanticus* McGregor]. *Sbornik statey. Mezhdunarodnaya nauchnaya konferentsiya molodykh uchenykh i spetsialistov, povyashchennaya 150-letiyu RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva*. 2015: 65–67. (In Rus.)
6. Popov S.Ya. K identifikatsii mestoobitaniya pautinnykh kleshchei (Acariformes, Tetranychidae) po biologicheskim pokazatelyam [On the identification of localities of spider mites (Acariformes, Tetranychidae) using biological characteristics]. *Zoologicheskii Zhurnal*. 1994; 73 (7–8): 31–41. (In Rus.)
7. Popov S.Ya. *Ecologicheskie osnovy ogranicheniya chislennosti i vredonosnosti osnovnykh vreditel'ey plodonosyashchey zemlyaniki: malinno-zemlyanichnogo dolgonosika i pautinnykh kleshchey: avtoref. dis. ... doktora biol. nauk* [Ecological basis for limiting the population density and harmfulness of the main pests of fruiting strawberries: strawberry blossom weevil and spider mites: DSc (Dio) thesis]. M.: MSKhA im. K.A. Timiryazeva, 1997: 36. (In Rus.)
8. Popov S.Ya. *Mnogoletnie pokazateli sezonnogo razvitiya pautinnykh kleshchey roda Tetranychus Dufour, 1832 (Acariformes, Tetranychidae) na zemlyanike v Moskovskoy oblasti* [Long-term characteristics of seasonal development of spider mites of the genus *Tetranychus* Dufour, 1832 (Acariformes, Tetranychidae) on strawberry in Moscow province]. *Entomologicheskoe Obozrenie*. 2003; 82 (1): 71–85. (In Rus.)
9. Popov S.Ya. *Taksonomicheskii status ryada vidov pautinnykh kleshchey roda Tetranychus (Acari, Tetranychidae) i reproductivnye bar'ery pri skreshchivanii morfologicheskii blizkikh i otdalennykh vidov* [Taxonomic status of some spider mites species of the genus *Tetranychus* (Acari, Tetranychidae) and reproductive barriers in crossings between morphologically adjacent and distant species]. *Ekologicheskie aspekty ogranicheniya vredonosnosti populyatsiy nasekomykh i kleshchey*. M.: izd. RGAU-MSKhA. 2013: 224–259. (In Rus.)
10. Popov S.Ya., Ponomarenko E.K., Gins M.S., Baikov A.A. *Analiz razlichnykh parametrov fluorestsentsii khlorofilla v list'yakh zemlyaniki sadovoy pri povrezhdenii atlanticheskim pautinnym kleshchom Tetranychus atlanticus McGregor* [An analysis of various parameters of chlorophyll fluorescence in strawberry leaves damaged by atlantic spider mite *Tetranychus atlanticus* McGregor]. *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii*. 2016; XXXVI: 323–329. (In Rus.)

11. Popov S.Ya., Popova T.A. Novye podkhody k kontseptsii ekonomicheskogo poroga vredonosnosti v integrirovannoy zashchite rasteniy [New approaches to conception of economic threshold in integrated pest management]. XV s"ezd Russkogo entomologicheskogo obshchestva. Novosibirsk, 31 iyulya – 7 avgusta 2017 g. Materialy s"ezda. Novosibirsk: "Izd. Garamond". 2017: 400–401. (In Rus.)

12. Shafigullin D.R., Baikov A.A., Gins M.S., Pronina E.P., Pivovarov V.F., Soldatenko A.V., Romanova E.V. Svyaz' induktsionnykh izmeneniy fluorestsentnykh pokazateley list'ev soi *Glycine max* (L.) Merr. s biokhimicheskimi kharakteristikami i produktivnost'yu [Relationship of inductional changes in the fluorescent indices of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) leaves with their biochemical characteristics and productivity]. Biofizika 2021. 66 (2): 286–296. (In Rus.)

13. Baikov A.A., Kvitka A.Yu., Popov S.Ya., Gins M.S., Solntsev M.K. Effects of biotic stress (spider mite injury) on leaf water status, total antioxidant capacity and lipid peroxidation in strawberry plants. Izvestiya TSKhA. 2012; Special issue: 113–115.

14. Bondada B.R., Oosterhuis D.M., Tugwell N.P., Kim K.S. Physiological and cytological studies of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, injury in cotton. Southwestern Entomologist. 1995; 20: 171–180.

15. Bounfour M., Tanigoshi L.K., Chen C., Cameron S.J., Klauer S. Chlorophyll content and chlorophyll fluorescence in red raspberry leaves infested with *Tetranychus urticae* and *Eotetranychus carpini borealis* (Acari: Tetranychidae). Environmental Entomology. 2002; 31 (2): 215–220.

16. Bueno A.F., Bueno R.C.O.F., Nabity P.D., Higley L.G., Fernandes O.A. Photosynthetic response of soybean to twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) injury. Brazilian archives of biology and technology. 2009; 52 (4): 825–834.

17. Chacon-Hernandez J.C., Camacho-Aguilar I., Cerna-Chavez E., Ordaz-Silva S., Ochoa-Fuentes Y.M., Landeros-Flores J. Effects of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Tetranychidae: Phytoseiidae) on the chlorophyll of rose plants (*Rosa* sp.). Agrociencia. 2018; 52 (6): 895–909.

18. De Angelis J.D., Larson K.C., Berry R.E., Krantz G.W. Effects of spider mite injury to transpiration and leaf water status in peppermint. Environ. Entomol. 1982; 11: 975–978.

19. English-Loeb G., Hesler S. Economic impact of the two-spotted spider mites (*Tetranychus urticae*) on strawberries grown as a perennial. New York fruit quarterly. 2004; 12 (4): 17–20.

20. Fraulo A.B., Cohen M., Liburd O.E. Visible/near infrared reflectance (VNIR) spectroscopy for detecting twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) damage in strawberries. Environmental Entomology. 2009; 38 (1): 137–142.

21. Latrou G., Cook C.M., Stamou G., Lanaras T. Chlorophyll fluorescence and leaf chlorophyll content of bean leaves injured by spider-mites (Acari: Tetranychidae). Exp. Appl. Acarol. 1995; 19: 581–591.

22. Makaraci A.Z., Flore J.A. Determination of physical damage thresholds of strawberry leaves (*Fragaria* × *ananassa* cv. Honeoye). Journal of Food, Agriculture & Environment. 2012; 10 (1): 376–380.

23. Maxwell K., Johnson G.N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. J. Exper. Botany. 2000; 51: 659–668.

24. Padilha G., Fiorin R.A., Filho A.C., Pozebon H., Rogers J., Marques R.P., Castilhos L.B., Donatti A., Stefanelo L., Burtet L.M., Stacke R.F., Guedes J.V.C., Arnenmann J.A. Damage assessment and economic injury level of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* in soybean. Pesq. Agropec. Bras., Brasília. 2020; 55. DOI: 10.1590/S1678–3921.pab2020.v55.01836.

25. Park Y. – L., Lee J. – H. Leaf cell and tissue damage of cucumber caused by twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae). Econ. Entomol. 2002; 95: (5): 952–957.

26. *Pedigo L.P., Rice M.E., Krell R.K.* Entomology and pest management. 7-th ed. Long Grove, IL: Waveland Press, Inc., 2021: 584.
27. *Popov S.Ya.* Economic injury level and economic threshold in IPM for strawberries. XXV International Congress of Entomology. 25–30th September. 2016. Orlando (USA).
28. *Sances F.V., Wyman J.A., Ting J.P., van Steenwyk R.A., Oatman E.R.* Spider mite interactions with photosynthesis, transpiration and productivity of strawberry. *Environ. Entomol.* 1981; 10: 442–448.
29. *Suekane R., Degrande P.E., de Melo E.P., Bertonecello T.F., dos Santos de Lima Junior I., Kodama C.* Damage level of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in soybeans. *Revista Ceres.* 2012; 59 (1): 77–81.
30. *Uygun T., Ozguven M.M., Yanar D.* A new approach to monitor and assess the damage caused by two-spotted spider mite. *Exp. and Appl. Acarol.* 2020; 82: 335–346.
31. *Zhang J., Huang Y., Pu R., Gonzalez-Moreno P., Yuan L., Wu K., Huang W.* Monitoring plant diseases and pests through remote sensing technology: A review. *Computers and Electronics in Agriculture.* 2019; 165: 104943.

**Пономаренко Екатерина Константиновна**, канд. биол. наук; e-mail: ekaterinannov200@gmail.com

**Попов Сергей Яковлевич**, д-р биол. наук, профессор кафедры защиты растений РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976–02–20; e-mail: sergei\_ya\_popov@mail.ru

**Байков Алексей Алексеевич**, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и биохимии, интродукции и функциональных продуктов, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр овощеводства»; 143080, Российская Федерация, Московская область, Одинцовский район, поселок ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14; тел.: (495) 599–24–42; e-mail: a.baikov@list.ru

**Гинс Мурат Сабирович**, д-р биол. наук, чл.-корр. РАН, заведующий лабораторией физиологии и биохимии, интродукции и функциональных продуктов, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр овощеводства»; 143080, Российская Федерация, Московская область, Одинцовский район, поселок ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14; тел.: (495) 599–24–42; e-mail: anirr@bk.ru)

**Ekaterina K. Ponomarenko**, PhD (Ag); phone: e-mail: ekaterinannov200@gmail.com

**Sergey Ya. Popov**, DSc (Bio), Professor of the Department of Plant Protection, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–02–20; E-mail: sergei\_ya\_popov@mail.ru)

**Aleksey A. Baykov**, Senior Research Associate of Laboratory of Physiology and Biochemistry, Plant Introduction and Functional Products, Federal Scientific Vegetable Center (14 Selektionnaya Str., Moscow region, Odintsovo district, VNISSOK v., 143080, Russian Federation; phone: (495) 599–24–42; E-mail: a.baikov@list.ru)

**Murat S. Gins**, DSc (Bio), RAS Corresponding Member, Head of the Laboratory of Physiology and Biochemistry, Plant Introduction and Functional Products, Federal Scientific Vegetable Center (14 Selektionnaya Str., Moscow region, Odintsovo district, VNISSOK v., 143080, Russian Federation; phone: (495) 599–24–42; E-mail: anirr@bk.ru)

## ОЦЕНКА КАЧЕСТВА НАДЗЕМНОЙ БИОМАССЫ СУДАНСКОЙ ТРАВЫ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

А.М. ТАРАБРИН<sup>1</sup>, К.С. КОНДАКОВ<sup>1</sup>, Е.А. ВЕРТИКОВА<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы»  
<sup>2</sup>Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

*Важной кормовой культурой для микрорзон России с недостаточным увлажнением является суданская трава. В настоящее время повышается спрос на зеленую массу суданской травы, так как высокая урожайность и уникальная засухоустойчивость способствуют в этих регионах активному развитию животноводства. Создание сортов и гибридов, адаптированных к засушливым регионам РФ кормового направления использования с высокой продуктивностью и качеством надземной биомассы, отвечает потребностям отрасли. В селекционном процессе с этой целью необходимо расширять генетическое разнообразие вовлекаемых новых форм в качестве доноров ценных признаков. В статье приведены результаты сравнительного анализа урожайности, кормовой и энергетической ценности надземной биомассы 118 сортов и селекционных линий суданской травы. По результатам исследований установили, что сортообразцы Л-106, Л-45, Л-176/14, Л-79/14, Амбиция, Кулундинская и Спутница статистически достоверно превысили по урожайности надземной биомассы первого укоса сорт-стандарт Спартак в среднем на 47,2%. По содержанию протеина в надземной биомассе выделили селекционную линию МЕВ-728 (11,19%) и сорт Мечта Поволжья (9,16%); по содержанию клетчатки – сорта Александрина (36,48%); Ташебинская (38,72%); Кулундинская (38,41%) и Фортуна (36,52%); по содержанию жира – селекционную линию Л-106 (5,00%); по содержанию золы – селекционную линию МЕВ-728 (9,21%) и сорт Мечта Поволжья (8,2%); по содержанию безазотистых экстрактивных веществ – селекционную линию Л-45 (58,55%); по содержанию каротиноидов – сортообразцы Л-92/14, Л-92/14, Л-45, МЕВ-728, Евгения, Мечта Поволжья. Наиболее урожайные по биомассе сорта Амбиция, Аллегория, Евгения, Кулундинская, Спутница, Александрина, а также селекционные линии Л-33–1/17, Л-176/14, Л-106, Л-45, Л-79/14 формировали высокий выход валовой энергии посевов суданской травы 1-го укоса. Сортообразцы МЕВ-728 и Мечта Поволжья статистически достоверно превысили сорт-стандарт по урожайности надземной биомассы во втором укосе на 46,4% и 39,1% соответственно.*

**Ключевые слова:** суданская трава, надземная биомасса, урожайность, выход валовой энергии, сортообразец.

### Введение

Для кормопроизводящих районов Юго-Востока России суданская трава имеет определенное значение, так как является засухоустойчивой культурой, способной обеспечить устойчивые урожаи надземной биомассы [1, 15]. Суданскую траву на зеленую массу скашивают в фазу выметывания. Корм для животных, приготовленный с использованием суданской травы, характеризуется высоким содержанием каротина и протеина [2, 14]. Важными особенностями данной культуры являются хорошее отращивание после скашивания и формирование 2–3 укосов за летний период.

В качестве зеленого корма суданскую траву можно использовать с середины лета и до наступления осенних заморозков, когда большинство кормовых культур в Нижнем Поволжье закончило свою вегетацию [9, 10]. Зеленую биомассу сортов и гибридов

суданской травы скармливают в виде сена, сенажа и в составе силоса скоту всех видов [1, 13]. Расширение посевных площадей суданской травы представляет первоочередную задачу кормопроизводства, но тесно связано с созданием высокопродуктивных сортов и гибридов, адаптированных к климатическим условиям региона [1, 10].

Основными задачами селекции остаются выделение и изучение исходного материала для создания сортов и гибридов, приспособленных к стрессовым факторам среды, обладающих комплексом хозяйственно-важных признаков. В селекционном процессе с этой целью необходимо расширять генетическое разнообразие вовлекаемых новых форм в качестве доноров ценных признаков.

**Цель исследований:** изучение сортов и селекционных линий суданской травы по биохимическим показателям, выходу валовой энергии и выходу кормовых единиц.

### Материал и методика исследований

Полевые исследования проводили на опытном поле ФГБНУ Российского научно-исследовательского и проектно-технологического института сорго и кукурузы в 2021–2022 гг. Площадь делянки составила 7,7 м<sup>2</sup>. Расположение делянок рендомизированное [8]. Повторность в опыте – трехкратная. Густота стояния – 100–150 тыс. раст/га. В коллекционном питомнике изучали 118 сортообразцов суданской травы инорайонной селекции и селекции института. В качестве стандарта использовали районированный сорт Спартанка.

По сочетанию важнейших погодных факторов 2021 и 2022 годы характеризовались как благоприятные для роста и развития сельскохозяйственных культур и в среднем соответствовали среднегодовым данным по температурному режиму, но отличались режимом и количеством осадков.

Все учеты и наблюдения проводили по общепринятым методикам [12], на основании «Широкого унифицированного классификатора СЭВ и международного классификатора СЭВ возделываемых видов рода *Sorghum Moench*» [16]. Фенологические наблюдения включали в себя определение сроков появления фаз: всходов, выметывания, цветения, восковой и полной спелости зерна. Определяли морфометрические параметры: высота растения через 30 сут. после всходов и при созревании, размеры и количество листьев, параметры, характеризующие соцветия и элементы продуктивности суданской травы при созревании растений.

Укосы сортообразцов суданской травы производили в фазу выметывания, определяя урожайность и качество надземной биомассы по содержанию питательных компонентов и оценке биоэнергетической ценности [11]. Содержание в надземной биомассе суданской травы каротина определяли по методике зоотехнического анализа кормов, содержание сухого вещества, протеина, жира, золы и сырой клетчатки – по ГОСТ [3–6]. Выход кормовых единиц с урожаем определяли, используя коэффициент 0,88. Энергетическую оценку определяли по Г.С. Посыпанову. Выход валовой энергии надземной биомассы и зерна рассчитывали по формуле:

$$Y = 23,60 \cdot z_1(\text{протеин}) + 39,65 \cdot z_2(\text{жир}) + 17,59 \cdot z_3(\text{клетчатка}) + 16,96 \cdot z_4(\text{БЭВ}),$$

где  $z_n$  – значение параметра.

Полученные данные обработаны с помощью прикладных программ статистического и биометрико-генетического анализа в растениеводстве и селекции «Agros» версии 2.09.

### Результаты и их обсуждение

Анализ элементов продуктивности надземной биомассы первого укоса сортообразцов суданской травы показал значительное варьирование по высоте растений в интервале от 105,7 до 224,0 см и облиственности в интервале от 49,2 до 89,6%, что повлияло

и на вариабельность урожайность надземной биомассы: от 4,95 до 26,95 т/га (табл. 1). Сортообразцы Л-106, Л-45, Л-176/14, Л-79/14, Амбиция, Кулундинская и Спутница статистически достоверно превысили по урожайности надземной биомассы первого укоса сорт-стандарт Спартанка в среднем на 47,2%. Остальные сортообразцы существенно не отличались от стандарта по изучаемому признаку (табл. 2).

Высокая облиственность отмечена у сортообразцов Евгения, Фаина, Л-257, Л-252–2/13, Л-45, Саратовская 1183, Волга, Л-79/14, Юбилейная 20. Сортообразцы Амбиция, Спартанка, Элегия, Новосибирская 84 и Л-45 характеризовались высокой общей кустистостью. Вариабельность данного признака составила от 4,00 до 5,00 побегов/раст. (табл. 1). Признак «Содержание каротина» характеризовался высокой вариабельностью, так как коэффициент вариации составил 53,0. По остальным изучаемым признакам коэффициент вариации изменялся от 7,2 до 29,5 (табл. 1).

Таблица 1

**Анализ статистических параметров выборки сортообразцов суданской травы первого укоса по элементам продуктивности и качеству надземной биомассы (2021–2022 гг.)**

Признак	Значение признака (min...max)	Средняя и ее ошибка	Коэффициент вариации
Высота растений, см	105,8–224,1	153,9 ± 3,8	18,5
Общая кустистость	1,8–5,1	3,0 ± 0,1	25,8
Облиственность, %	49,3–89,7	70,8 ± 1,3	13,1
Содержание питательных компонентов в сухом веществе биомассы, %			
- сырого протеина	3,64–12,57	6,99 ± 0,29	29,4
- сырой клетчатки	24,96–38,74	33,02 ± 0,42	8,9
- сырого жира	1,34–3,99	2,37 ± 0,09	24,5
- сырой золы	5,18–9,70	6,56 ± 0,16	16,8
- БЭВ	40,74–58,56	51,07 ± 0,51	7,2
Содержание каротина, мг/кг	3,67–30,72	12,52 ± 0,93	53,0
Содержание в биомассе сухого вещества, %	22,49–46,77	33,60 ± 0,89	19,1
Урожайность зеленой биомассы, т/га	4,96–26,96	14,70 ± 0,61	29,5
Урожайность сухого вещества, т/га	1,18–8,31	4,77 ± 0,19	27,4
Выход валовой энергии, ГДж/га	20,89–150,75	86,35 ± 3,28	27,4
Выход корм. ед., т/га	1,06–7,48	4,29 ± 0,17	27,4

По содержанию протеина в надземной биомассе выделили селекционную линию МЕВ-728 (11,19%) и сорт Мечта Поволжья (9,16%), которые превысили сорт-стандарт на 6,53 и 4,6% соответственно. Сорты Александрина (36,48%),

Ташебинская (38,72%), Кулундинская (38,41%) и Фортуна (36,52%) превысили стандарт по содержанию клетчатки в среднем на 1,8% (табл. 2).

По содержанию жира выделили селекционную линию Л-106 (5,00%); по содержанию золы – селекционную линию МЕВ-728 (9,21%) и сорт Мечта Поволжья (8,21%); по содержанию безазотистых экстрактивных веществ – селекционную линию Л-45 (58,55%).

Содержание каратиноидов у сорта-стандарта Спартанка составило 9,69 мг/кг. Сортообразцы Л-92/14, Л-92/14, Л-45, МЕВ-728, Евгения, Мечта Поволжья существенно превысили стандарт в среднем на 43%.

Селекционная линия Л-176/14 имела значение признака достоверно ниже на 58,11%. Остальные сортообразцы статистически достоверно не отличались от сорта Спартанка.

Содержание абсолютно сухого вещества в надземной биомассе у сорта-стандарта отмечено на уровне 32,89%. Селекционная линия Л-45 и сорта Саратовская 1183 и Спутница превысили стандарт по изучаемому признаку на 5,43; 12,12; 6,52% соответственно. Сорт Спартанка имел урожайность сухого вещества на уровне 5,30 т/га. Селекционные линии Л-45 и Л-33–1/17 и сорт Спутница и Кулундинская статистически достоверно превысили сорт-стандарт в среднем на 44,1%. Остальные сортообразцы не имели статистически значимых отличий от сорта Спартанка.

Оценка сортообразцов по урожайности и биохимическому составу сухого вещества надземной биомассы позволила определить выход валовой энергии суданской травы первого укоса. Значение данного признака у сортообразцов в среднем за два года варьировало от 20,88 до 150,74 ГДж/га. Наиболее урожайные по биомассе сортообразцы Амбиция, Аллегория, Евгения, Кулундинская, Спутница, Александрина, а также селекционные линии Л-33–1/17, Л-176/14, Л-106, Л-45, Л-79/14 формировали высокий выход валовой энергии посевов суданской травы первого укоса. Он составил более 100,0 ГДж/га (табл. 2).

По выходу корм. ед. с 1 га статистически достоверно превысили сорт-стандарт Спартанка сортообразцы Л-45 (7,05 т/га), Кулундинская (7,47 т/га) и Спутница (9,56 т/га) – в среднем на 64,6%.

В среднем за два года большинство изученных сортообразцов суданской травы сформировало второй укос (табл. 3).

Некоторые сортообразцы суданской травы слабо формировали отаву. Высота растений второго укоса варьировала в интервале 72,3–160,7 см (табл. 3).

Сорт Спартанка имел высоту растения 117,2 см. Селекционные линии Л-48/16 и Л-96–3/19 статистически достоверно не отличались от сорта-стандарта по изучаемому признаку. Сортообразцы Л-45, Л-45, Л-106, Л-118/17, Александрина и Евгения имели значение изучаемого признака существенно ниже в среднем на 17,04%. Остальные сортообразцы статистически достоверно превысили сорт-стандарт Спартанка в среднем на 16,45%. По признаку «Общая кустистость» выделили сорт Спутница, который превысил стандарт на 1,65%. Высокой облиственностью характеризовались сортообразцы Л-79/14, Александрина и Евгения.

Сорт Спартанка имел урожайность надземной биомассы на уровне 6,86 т/га. Сортообразцы МЕВ-728 и Мечта Поволжья статистически достоверно превысили сорт-стандарт по изучаемому признаку на 46,4 и 39,1% соответственно. Селекционные линии Л-33–1/17, Л-45, Л-79/14 и сорта Саратовская 1183, Спутница и Чишминская ранняя статистически достоверно не отличались по изучаемому признаку от сорта-стандарта Спартанка. Остальные сортообразцы имели значение признака существенно ниже, чем сорт-стандарт, – в среднем на 67,5%.

Таблица 2

**Биохимический состав надземной биомассы и выход валовой энергии лучших сортов и селекционных линий суданской травы, первый укос (2021–2022 гг.)**

Наименование образца	Содержание сырых питательных веществ в сухом веществе биомассы, %					Каротиноиды, мг/кг	Содержание абс.сухого вещества, %	Урожайность биомассы, т/га	Урожайность сухого в-ва, т/га	Выход валовой энергии, ГДж/га	Выход корм. ед., т/га
	протеин	клетчатка	жир	зола	БЭВ						
Спартанка (st.)	4,56	35,76	2,67	6,59	50,42	9,69	32,89	16,10	5,30	95,99	4,77
Л-33–1/17	5,94	33,92	1,91	6,13	52,10	10,51	36,62	19,10	6,99	126,46	6,29
Л-45	8,88	24,95	1,84	5,78	58,55	19,36	38,32	20,45	7,84	141,71	7,05
Л-48/16	6,31	32,09	2,18	5,95	53,47	10,05	32,54	15,70	5,11	92,71	4,60
Л-79/14	8,25	26,68	1,84	6,47	56,76	9,01	30,92	21,15	6,54	117,50	5,89
Л-92/14	7,25	34,63	3,57	6,48	48,07	16,19	29,64	15,00	4,45	82,22	4,00
Л-96–3/19	7,31	29,96	2,70	7,74	52,29	25,79	32,65	16,35	5,34	95,88	4,80
Л-106	4,94	32,07	5,00	6,24	51,75	5,60	28,57	20,70	5,91	110,22	5,32
Л-118/17	5,62	31,02	2,69	6,39	54,28	7,34	22,48	19,55	4,39	79,60	3,96
Л-176/14	5,68	33,98	1,59	5,95	52,80	4,06	29,33	20,90	6,13	110,49	5,52
МЕВ-728	11,19	30,94	2,88	9,21	45,78	20,04	23,02	15,65	3,14	56,63	2,83
Александрина	5,06	36,48	2,08	5,69	50,69	6,43	30,71	18,00	5,53	100,63	4,98
Амбиция	4,87	34,97	1,61	7,46	51,09	6,84	27,86	20,75	5,78	102,55	5,20
Аллегория	5,12	33,50	2,79	5,99	52,60	8,04	32,40	17,20	5,57	101,63	5,02
Евгения	4,62	35,37	2,41	5,74	51,86	22,62	37,11	16,70	6,20	112,86	5,58
Кулундинская	5,44	38,41	1,68	5,91	48,56	10,09	33,76	24,60	8,30	150,74	7,47
Мечта Поволжья	9,16	32,99	1,89	8,21	47,76	30,71	31,13	14,95	3,41	61,01	3,07
Саратовская 1183	6,44	31,49	1,32	6,25	54,50	13,67	45,01	10,40	4,68	83,78	4,21
Спутница	5,81	33,57	3,05	5,29	52,28	9,08	39,41	26,95	10,62	196,10	9,56
Ташебинская	5,31	38,72	1,98	6,29	47,7	13,39	38,62	11,15	4,31	78,16	3,88
Чишминская ранняя	6,31	34,45	1,36	6,14	51,74	9,78	40,54	13,30	5,39	97,02	4,85
Фортуна	5,75	36,52	2,90	5,59	49,24	18,02	32,47	16,55	5,37	99,15	4,84
F <sub>факт.</sub>	-	-	-	-	-	8,364*	-	11,701*	7,439*	15,111*	8,379*
НСР <sub>05</sub>	-	-	-	-	-	4,10	-	3,81	1,37	13,24	2,13

\*Значимо на 5%-ном уровне.

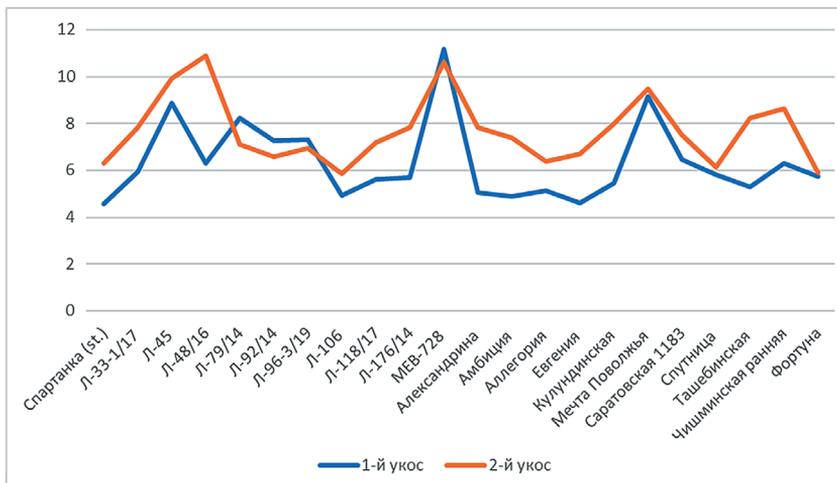
Таблица 3

**Анализ элементов продуктивности суданской травы, второй укос, 2021–2022 гг.**

Сортообразец	Высота, см	Кустистость общая, %	Облиственность, %	Урожайность биомассы, т/га
Спартанка (st.)	117,20	5,91	57,67	6,86
Л-33–1/17	151,30	1,81	51,01	5,01
Л-45	105,10	3,65	35,55	6,06
Л-48/16	113,40	1,83	63,52	3,71
Л-79/14	127,40	3,51	70,22	4,71
Л-92/14	109,40	2,95	52,01	3,76
Л-96–3/19	114,10	2,86	67,06	4,41
Л-106	96,10	4,18	71,63	3,71
Л-118/17	91,20	4,45	64,39	3,66
Л-176/14	144,10	4,65	62,69	7,11
МЕВ-728	125,80	6,48	54,94	14,21
Александрина	110,10	5,29	72,59	3,11
Амбиция	109,40	2,81	56,11	2,06
Аллегория	122,80	2,41	56,59	3,81
Евгения	85,10	2,08	76,75	2,16
Кулундинская	122,10	1,49	27,50	2,01
Мечта Поволжья	133,00	5,84	62,01	9,54
Саратовская 1183	148,10	2,85	41,76	5,16
Спутница	121,80	7,56	49,47	4,66
Ташебинская	129,40	3,62	59,66	2,86
Чишминская ранняя	136,10	4,18	55,22	4,81
Фортуна	123,10	3,150	32,44	3,71
F <sub>факт.</sub>	63,790*	-	-	22,192*
НСР <sub>05</sub>	4,1	-	-	2,3

\*Значимо на 5%ном уровне.

По причине более высокой облиственности растений в среднем за два года сорта и линии суданской травы второго укоса характеризовались повышенным содержанием сырого протеина (рис. 1), а также каротиноидов.



**Рис. 1.** Содержание сырого протеина в сухом веществе биомассы в среднем за два года, %

Выход валовой энергии посевов суданской травы второго укоса варьировал в пределах 9,25–77,54 ГДж/га.

Высоким значением выхода валовой энергии характеризовалась селекционная линия МЕВ-728 (77,45 ГДж/га), которая имела и самую высокую урожайность надземной биомассы (табл. 3).

### Выводы

Сорта суданской травы, характеризующиеся достаточно высокими показателями урожайности, качества продукции и накопления валовой энергии посевов, целесообразно использовать в кормопроизводстве в условиях Нижнего Поволжья. По результатам исследований выделили перспективные для селекции сортообразцы.

Сортообразцы Л-106, Л-45, Л-176/14, Л-79/14, Амбиция, Кулундинская и Спутница рекомендовано использовать в селекции на высокую урожайность надземной биомассы.

Сортообразцы МЕВ-728, Л-45, Евгения и Мечта Поволжья рекомендовано использовать в селекции на высокое качество и питательную ценность надземной биомассы. Селекционную линию МЕВ-728 и сорт Мечта Поволжья целесообразно использовать в селекционных программах для создания сортов и гибридов с хорошей отрастаемостью после первого укоса.

*The article was made with support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with agreement № 075–15–2022–317 date April 20, 2022 on providing a grant in the form of subsidies from the Federal budget of Russian Federation. The grant was provided for state support for the creation and development of a World-class Scientific Center “Agrotechnologies for the Future”.*

### Библиографический список

1. Вертикова Е.А., Морозов Е.В., Ермолаева Г.И. Селекция зернового сорго на скороспелость и урожайность биомассы в условиях Нижнего Поволжья // Сборник статей Международной научно-практической конференции, посвященной 128-й

- годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова / ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова». – 2015. – С. 101–103.
2. *Горпиниченко С.И., Метлина Г.В., Васильченко С.А., Ковтунова Н.А.* Продуктивность и энергетическая эффективность возделывания новых сортов суданской травы и сорго-суданковых гибридов // *Зерновое хозяйство России*. – 2016. – № 2 (44). – С. 37–41.
3. ГОСТ 10846–91. Межгосударственный стандарт. Метод определения белка. Зерно и продукты его переработки. Издание официальное. – М.: Стандартинформ, 2009. – 6 с.
4. ГОСТ 13496.15–2016. Межгосударственный стандарт. Метод определения сырого жира. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Взамен ГОСТ 13496.15–97. Введ. 01.01.2018. Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации. – М.: Стандартинформ, 2016. – 12 с.
5. ГОСТ 26226–95. Межгосударственный стандарт. Метод определения сырой золы. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Взамен ГОСТ 26226–84. Введ. 01.01.1997. – Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1995. – 8 с.
6. ГОСТ 31675–2012. Корма. Методы определения содержания сырой клетчатки с применением промежуточной фильтрации. – М.: Изд-во стандартов, 2012. – 39 с.
7. *Григорьев Н.Г., Скоробогатых Н.Н., Косолапов В.М.* Оценка качества кормов по обменной энергии // *Кормопроизводство*. – 2008. – № 9. – С. 21–22.
8. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М., 2011. – 352 с.
9. *Кибальник О.П., Ефремова И.Г., Семин Д.С., В.С. Горбунов, Каменева О.Б., Старчак В.И., Куколева С.С.* Оценка качества зерна и биомассы сорго с целью использования в кормопроизводстве // *Зерновое хозяйство России*. – № 4 (64). – 2019. – С. 3–7.
10. *Куколева С.С., Семин Д.С., Кибальник О.П., Старчак В.И.* Скрининг сортообразцов суданской травы в условиях Саратовской области // *Зерновое хозяйство России*. – 2016. – № 4 (46). – С. 8–11.
11. *Куперман Ф.М.* Морфофизиология растений. Морфофизиологический анализ этапов органогенеза различных жизненных форм покрытосеменных растений: М. – М.: Высшая школа, 1984. – 240 с.
12. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. – М., 1985. – 267 с.
13. *Семин Д.С., Костина Г.И., Ляцева С.В., Кибальник О.П., Гаршин А.Ю., Куколева С.С.* Подбор и оценка исходного материала для селекции суданской травы в условиях Саратовской области // *Сборник материалов Международной научно-практической конференции «Стратегические задачи аграрного образования и науки»*. – Екатеринбург: УрГАУ, 2015. – С. 378–384.
14. *Сизова Ю.В., Борисова Е.Е.* Использование суданской травы в кормлении молочных коров // *Новая наука: современное состояние и пути развития*. – 2016. – № 5. – С. 19–22.
15. *Степанченко Д.А., Куколева С.С.* Оценка морфологических признаков и урожайности суданской травы // *Сборник тезисов Международной конференции «125 лет прикладной ботаники в России»*, Санкт-Петербург. – СПб., 2019. – С. 262.
16. *Якушевский Е.С., Варадинов Г., Корнейчук В.А., Баня Л.* Широкий унифицированный классификатор СЭВ возделываемых видов рода *sorghum moench* / Все-союзный научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР). – Ленинград, 1982. – 35 с.

# EVALUATION OF THE QUALITY OF ABOVE-GROUND BIOMASS OF SUDAN GRASS FOR BREEDING IN THE CONDITIONS OF THE LOWER VOLGA REGION

A.M. TARABRIN<sup>1</sup>, K.S. KONDAKOV<sup>1</sup>, E.A. VERTIKOVA<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Russian Research and Design and Technology Institute of Sorghum and Corn,

<sup>2</sup>Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

*Sudanese grass is an important fodder crop for microzones of Russia with insufficient moisture. Currently, the demand for green mass of Sudanese grass is increasing, as high yields and unique drought resistance contribute to the active development of animal husbandry in these regions. The creation of varieties and hybrids adapted to the arid regions of the Russian Federation for fodder use with high productivity and quality of above-ground biomass meets the needs of the industry. In the breeding process, for this purpose, it is necessary to expand the genetic diversity of new forms involved as donors of valuable traits. The article presents the results of a comparative analysis of the yield, fodder and energy value of the above-ground biomass of 118 varieties and breeding lines of Sudanese grass. According to the results of the study, it was found that the varieties L-106, L-45, L-176/14, L-79/14, Ambitsiya, Kulundinskaya and Sputnitsa statistically significantly exceeded the standard variety Spartanka by an average of 47.2%. According to the protein content in the aboveground biomass, the breeding line MEV-728 (11,19%) and the Mechta Povolzh'ya variety (9,16%) were distinguished; according to the fiber content – varieties: Aleksandrina (36,48%), Tashebinskaya (38,72%), Kulunda (38,41%), and Fortuna (36,52%); according to the fat content – the breeding line L-106 (5,00%); according to the ash content – the breeding line MEB-728 (9,21%) and the Mechta Povolzh'ya variety (8,21%); according to the content of nitrogen-free extractives – the breeding line L-45 (58,55%); according to the content of carotenoids variety samples L-92/14, L-92/14, L-45, MEV-728, Evgeniya, Mechta Povolzh'ya. The most productive biomass varieties Ambitsiya, Allegory, Evgeniya, Kulundinskaya, Sputnitsa, Aleksandrina, as well as breeding lines L-33–1/17, L-176/14, L-106, L-45, L-79/14, formed a high yield of gross energy of crops of Sudanese grass of the 1st cutting. Variety samples MEV-728 and Mechta Povolzh'ya statistically significantly exceeded the standard variety in terms of aboveground biomass yield in the second cut by 46.4% and 39.1%, respectively.*

**Key words:** Sudanese grass, aboveground biomass, productivity, gross energy output, variety sample.

## References

1. Vertikova E.A., Morozov E.V., Ermolaeva G.I. Seleksiya zernovogo sorgo na skorpelost' i urozhaynost' biomassy v usloviyakh Nizhnego Povolzh'ya [Selection of grain sorghum for early maturity and biomass yield in the conditions of the Lower Volga region]. Sb. statey mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 128-y godovshchine so dnya rozhdeniya akademika N.I. Vavilova. FGBOU VO "Saratovskiy gosudarstvenniy agrarniy universitet imeni N.I. Vavilova". 2015: 101–103. (In Rus.)
2. Gorpichenko S.I., Metlina G.V., Vasil'chenko S.A., Kovtunova N.A. Produktivnost' i energeticheskaya effektivnost' vozdeleyvaniya novykh sortov sudanskoy travy i sorgo-sudankovykh gibridov [Productivity and energy efficiency of cultivation of new varieties of Sudan grass and sorghum-Sudan hybrids]. Zernovoe khozyaystvo Rossii. 2016; 2 (44): 37–41. (In Rus.)
3. GOST 10846–91 Mezhhgosudarstvenniy standart. Metod opredeleniya belka. Zerno i produkty ego pererabotki. Izdanie ofitsial'noe [Interstate standard. Method for determination of protein. Official edition]. Moscow: Standartinform, 2009: 6. (In Rus.)

4. GOST 13496.15–2016 Mezhhgosudarstvenniy standart. Metod opredeleniya syrogo zhira. Korma, kombikorma, kombikormovoe syr'e [Interstate standard. Methods for determining the raw fat content. Feeds, mixed feeds, feed raw material]. Instead of GOST 13496.15–97; Introduced 01.01.2018. Interstate Council for Standardization, Metrology and Certification; Moscow: Standartinform, 2016: 12. (In Rus.)
5. GOST 26226–95 Mezhhgosudarstvenniy standart. Metod opredeleniya syroy zoly. Korma, kombikorma, kombikormovoe syr'e [Interstate standard. Methods for determination of raw ash. Fodder, mixed fodder and mixed fodder raw material]. Instead of GOST 26226–84; Introduced 01.01.1997. Minsk: Interstate Council for Standardization, Metrology and Certification, 1995: 8. (In Rus.)
6. GOST 31675–2012 Korma. Metody opredeleniya soderzhaniya syroy kletchatki s primeneniem promezhutochnoy fil'tratsii [Feeds. Methods for determination of crude fibre content with intermediate filtration]. M.: Izd-vo standartov, 2012: 39. (In Rus.)
7. *Grigor'ev N.G., Skorobogatykh N.N., Kosolapov V.M.* Otsenka kachestva kormov po obmennoy energii [Evaluation of feed quality by exchange energy]. *Kormoproizvodstvo*. 2008; 9: 21–22. (In Rus.)
8. *Dospekhov B.A.* Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy) [Methods of field experience (with the basics of statistical processing of research results)]. M., 2011: 352. (In Rus.)
9. *Kibal'nik O.P., Efremova I.G., Semin D.S., Gorbunov V.S., Kameneva O.B., Starchak V.I., Kukoleva S.S.* Otsenka kachestva zerna i biomassy sorgo s tsel'yu ispol'zovaniya v kormoproizvodstve [Assessment of the quality of grain and biomass of sorghum for the purpose of using it in feed production]. *Zernovoe khozyaystvo Rossii*. 2019; 4 (64): 3–7. (In Rus.)
10. *Kukoleva S.S., Semin D.S., Kibal'nik O.P., Starchak V.I.* Skrining sortoobraztsov sudanskoj travy v usloviyakh Saratovskoy oblasti [Screening of varieties of Sudanese grass in the conditions of the Saratov region]. *Zernovoe khozyaystvo Rossii*. 2016; 4 (46): 8–11. (In Rus.)
11. *Kuperman F.M.* Morfofiziologiya rasteniy. Morfofiziologicheskij analiz etapov organogeneza razlichnykh zhiznennykh form pokrytosemennykh rasteniy [Morphophysiology of plants. Morphophysiological analysis of the stages of organogenesis of various life forms of angiosperms]. M.: Vysshaya shkola, 1984: 240. (In Rus.)
12. Metodika gosudarstvennogo sortoispytaniya sel'skokhozyaystvennykh kul'tur [Methods of state variety testing of agricultural crops]. M., 1985: 267. (In Rus.)
13. *Semin D.S., Kostina G.I., Lyashcheva S.V., Kibal'nik O.P., Garshin A.Yu., Kukoleva S.S.* Podbor i otsenka iskhodnogo materiala dlya selektsii sudanskoj travy v usloviyakh Saratovskoy oblasti [Selection and evaluation of the source material for the selection of Sudanese grass in the conditions of the Saratov region] *Sb. po materialam Mezhd. nauch.-prak. konf. "Strategicheskie zadachi agrarnogo obrazovaniya i nauki"*. Ekaterinburg: UrGAU. 2015: 378–384. (In Rus.)
14. *Sizova Yu.V., Borisova E.E.* Ispol'zovanie sudanskoj travy v kormlenii molochnykh korov [The use of Sudanese grass in feeding dairy cows]. *Novaya nauka: sovremennoe sostoyanie i puti razvitiya*. 2016; 5: 19–22. (In Rus.)
15. *Stepanchenko D.A., Kukoleva S.S.* Otsenka morfologicheskikh priznakov i urozhaynosti sudanskoj travy [Evaluation of morphological characteristics and productivity of Sudanese grass]. *Sb. tezisov mezhd. konf. 125 let prikladnoy botaniki v Rossii*. St. Petersburg, 2019: 262. (In Rus.)
16. *Yakushevskiy E.S., Varadinov G., Korneychuk V.A., Banyai L.* Shirokiy unifikirovanniy klassifikator SEV vozdel'yaemykh vidov roda sorghum moench [Wide unified CMEA classifier of cultivated species of the genus sorghum moench]. *Vsesoyuz. nauch.-issled. inst. rast-va im. N.I. Vavilova (VIR)*. Leningrad, 1982: 35. (In Rus.)

**Тарабрин Александр Михайлович**, научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы»; 410050, Российская Федерация, г. Саратов, 1-й Институтский проезд, 4 (пос. Зональный).; соискатель на кафедре генетики, селекции и семеноводства, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49

**Кондаков Константин Сергеевич**, директор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы»; 410050, Российская Федерация, г. Саратов, 1-й Институтский проезд, 4 (пос. Зональный)

**Вертикова Елена Александровна**, д-р с.-х. наук, доцент, кафедра генетики, селекции и семеноводства Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: vertikovaea@yandex.ru; тел.: (985) 611–63–88

**Aleksandr M. Tarabrin**, Research Associate, Russian Research and Design and Technology Institute of Sorghum and Corn (4 Perviy Institutskiy proezd, Zonalniy v., Saratov, 410050, Russian Federation); external PhD student, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation)

**Konstantin S. Kondakov**, Director, Russian Research and Design and Technology Institute of Sorghum and Corn (4 Perviy Institutskiy proezd, Zonalniy v., Saratov, 410050, Russian Federation)

**Elena A. Vertikova**, DSc (Ag), Associate Professor of the Department of Genetics, Breeding and Seed Production, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation); phone: (985) 611–63–88; E-mail: vertikovaea@yandex.ru)

## ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ И РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ЧЕРНОЙ НОЖКИ КАРТОФЕЛЯ

А.А. ДАЦЮК, Р.И. ТАРАКАНОВ

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева)

Оценена антибактериальная активность 25 образцов эфирных масел и 7 образцов водных и этанольных растительных экстрактов против комплекса возбудителей черной ножки картофеля *Dickeya chrysanthemi*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum*, *Dickeya dadantii* и *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. По отношению к описанным видам патогенов проведены исследования *in vitro* с применением метода диффузии в агаре, определены минимальные ингибирующие (МИК) и минимальные бактерицидные концентрации (МБК) эфирных масел и экстрактов растений. По итогам скрининга для дальнейших исследований в условиях *in vivo* были выбраны эфирные масла душицы обыкновенной, коричника китайского, гвоздичного дерева, а также этанольные экстракты бадана толстолистного и дуба обыкновенного. В тестах на инфекционном фоне оценивали способность выбранных эфирных масел и экстрактов предотвращать мацерацию клубней картофеля при их применении в профилактических и лечебных целях. При лечебном применении данных эфирных масел в концентрации 40 мг/мл и более и растительных экстрактов в концентрации 150 мг/мл и более биологическая эффективность составляла 12,4–48,7%, а при профилактическом применении – 35,3–100%. Анализы ГХ–МС и ГХ–ПИД показали, что основным веществом в составе эфирного масла душицы обыкновенной выступал карвакрол (62,32%), в составе коричника китайского – коричный альдегид (84,25%), в составе гвоздичного дерева – эвгенол (76,98%). В составах экстрактов бадана толстолистного и дуба обыкновенного преобладали уксусная (27,85%) и капроновая (28,52%) кислоты соответственно.

**Ключевые слова:** черная ножка картофеля, бактериальные возбудители мягкой гнили, защита растений, антимикробная активность, эфирные масла, растительные экстракты, *Dickeya chrysanthemi*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum*, *Dickeya didantii*.

### Введение

Развитие бактериальных заболеваний на картофеле является одним из важнейших лимитирующих факторов при производстве картофеля во всем мире, вызывая серьезные экономические потери как во время возделывания, так и в период послеуборочного хранения. При этом одними из наиболее опасных патогенов являются пектолитические бактерии в составе родов *Pectobacterium* и *Dickeya*, возбудители мягкой гнили и черной ножки картофеля. Данные патогены являются близкородственными граммотрицательными бактериями, способными вызывать мягкую гниль и загнивание растительных тканей у широкого круга однодольных и двудольных растений-хозяев по всему миру [23].

Несмотря на то, что основным источником заражения картофеля возбудителями черной ножки являются латентно инфицированные семенные клубни [6], пектобактерии также способны к длительному выживанию на растительных остатках [38], способствуя перезаражению растущих в поле растений-хозяев, а также заражению нового урожая во время уборки и транспортировки [21], проникая в ткани растений через естественные или механические повреждения, преимущественно при повышенной влажности.

К сожалению, агротехнические меры по защите картофеля не обеспечивают приемлемый уровень защиты от возбудителей черной ножки картофеля [16], а сертифицированные семена не всегда являются решением проблемы ввиду возможности распространения патогенов аэрогенно. Несмотря на отсутствие эффективных мер борьбы с черной ножкой картофеля, химический метод остается наиболее распространенным. Однако применение пестицидов влечет за собой опасность как для окружающей среды, так и для самого человека ввиду накопления их в продукции растениеводства.

В связи с вышеупомянутыми рисками перспективным является использование альтернативных нетоксичных антимикробных агентов – так называемых ботанических пестицидов, к которым относятся эфирные масла и экстракты растений.

В последнее десятилетие активно разрабатываются научные основы применения ботанических пестицидов в защите растений от вредных организмов (табл. 1). Результаты показывают большие перспективы их применения в защите растений от пектолитических бактерий эфирных масел [15, 20] и экстрактов растений [9].

Целью работы явилась оценка антибактериальных свойств эфирных масел и растительных экстрактов по отношению к возбудителям черной ножки картофеля в условиях *in vitro* и *in vivo*.

### Материал и методика исследований

Для оценки антибактериальных свойств эфирных масел и экстрактов растений были использованы референтные штаммы пектолитических бактерий из коллекции DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Braunschweig, Германия) *Dickeya chrysanthemi* (DSM 4610), *Dickeya dadantii* (DSM 18020), *Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum* (DSM 30168), *Pectobacterium carotovorum subsp. odoriferum* (DSM 22556).

Для первичного скрининга антибактериальной активности эфирных масел и экстрактов растений были использованы эфирные масла 25 растений и 7 растительных экстрактов (4 водных и 3 спиртовых) из 6 растений. Перечень растений представлен в таблице 1.

Растительные образцы для последующего выделения эфирных масел и экстрактов растений были собраны в Ботаническом саду Первого МГМУ имени И.М. Сеченова в июле 2021 г. После сбора образцы растений высушивали в темном вентилируемом помещении в течение 20 дней. Затем образцы измельчали и подвергали гидродистилляции с использованием аппарата Клевенджера. Маслянистый слой, находящийся поверх водного дистиллята, отделяли и сушили над безводным сульфатом натрия для удаления остаточной воды из эфирного масла. Экстрагированные эфирные масла хранили в герметичных пробирках при 4°C до дальнейшего анализа [13].

Экстракты растений получали с помощью прибора Сокслета, используя в качестве растворителей 96%-ный этанольный спирт и дистиллированную воду. Предварительно измельченный растительный материал помещали внутрь экстрактора поверх бумажного обеззоленного фильтра, затем заливали растворитель в соотношении 1:4. Установку помещали на нагреватель и проводили экстрагирование. Полученные экстракты концентрировали досуха на роторном испарителе RE100-Pro (DLab, Beijing, Китай) при 50°C, после чего растворяли в ДМСО до 50%-ной концентрации. Полученные растворы растительных экстрактов хранили в герметичных пробирках при 4°C до дальнейшего анализа [18].

Анализ эфирных масел и экстрактов растений проводили при помощи газового хроматографа Agilent 8890 GC System с двумя независимыми каналами, капиллярными кварцевыми колонками DB-1MS (длина – 60 м, диаметр – 0,25 мм, толщина пленки неподвижной фазы – 0,25 мкм) с применением масс-спектрометрического (МСД) и пламенно-ионизационного детекторов (ПИД) [7].

**Список растительных образцов,  
используемых для выделения эфирных масел и экстрактов растений**

Источник выделения			Орган выделения	Упоминание в научной литературе
Название (рус.)	Название (лат.)	Семейство		
Эфирные масла				
Анис обыкновенный	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Зонтичные ( <i>Apiaceae</i> )	Семена	[36]
Гвоздичное дерево	<i>Syzygium aromaticum</i> L.	Миртовые ( <i>Myrtaceae</i> )	Стебли, листья, соцветия	[3]
Душица обыкновенная	<i>Origanum vulgare</i> L.	Яснотковые ( <i>Lamiaceae</i> )	Листья, стебли	[1]
Кардамон настоящий	<i>Elettaria cardamomum</i> L.	Имбирные ( <i>Zingiberaceae</i> )	Семена	[2]
Кориандр посевной	<i>Coriandrum sativum</i> L.	Зонтичные ( <i>Apiaceae</i> )	Семена	[42]
Коричник китайский	<i>Cinnamomum cassia</i> L.	Лавровые ( <i>Lauraceae</i> )	Листья	[19]
Лаванда узколистная	<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Яснотковые ( <i>Lamiaceae</i> )	Листья, соцветия	[23]
Лайм настоящий	<i>Citrus aurantiifolia</i> (Christm.) Swingle	Рутовые ( <i>Rutaceae</i> )	Кожура плодов	[30]
Мандарин Клементин	<i>Citrus unshiu</i>	Рутовые ( <i>Rutaceae</i> )	Кожура плодов	[47]
Мята длиннолистная	<i>Mentha longifolia</i> L.	Яснотковые ( <i>Lamiaceae</i> )	Стебли, листья, соцветия	[22]
Мята перечная	<i>Mentha piperita</i> L.	Яснотковые ( <i>Lamiaceae</i> )	Стебли, листья, соцветия	[12]
Пижма обыкновенная	<i>Tanacetum vulgare</i> L.	Астровые ( <i>Asteraceae</i> )	Листья, соцветия	[38]
Пихта сибирская	<i>Abies sibirica</i> Ledeb.	Сосновые ( <i>Pinaceae</i> )	Ветви, хвоя	[40]
Розмарин обыкновенный	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Яснотковые ( <i>Lamiaceae</i> )	Листья, соцветия	[48]
Ротанговая пальма	<i>Calamus rotang</i> L.	Пальмовые ( <i>Arecaceae</i> )	Корневище	[35]
Рута душистая	<i>Ruta graveolens</i> L.	Рутовые ( <i>Rutaceae</i> )	Листья, стебли	[31]

Источник выделения			Орган выделения	Упоминание в научной литературе
Название (рус.)	Название (лат.)	Семейство		
Тимьян обыкновенный	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Яснотковые ( <i>Lamiaceae</i> )	Листья, соцветия	[34]
Тмин обыкновенный	<i>Carum carvi</i> L.	Зонтичные ( <i>Apiaceae</i> )	Семена	[26]
Тысячелистник обыкновенный	<i>Achillea millefolium</i> L.	Астровые ( <i>Asteraceae</i> )	Соцветия	[27]
Фенхель обыкновенный	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Зонтичные ( <i>Apiaceae</i> )	Семена	[25]
Цитрус бергамот	<i>Citrus aurantium</i> subsp. <i>bergamia</i>	Рутовые ( <i>Rutaceae</i> )	Кожура плодов	[14]
Чабер садовый	<i>Satureja hortensis</i> L.	Яснотковые ( <i>Lamiaceae</i> )	Стебли, листья, соцветия	[36]
Черный тмин	<i>Nigella sativa</i> L.	Лютиковые ( <i>Ranunculaceae</i> )	Семена	[8]
Чеснок посевной	<i>Allium sativum</i> L.	Амариллисовые ( <i>Amaryllidaceae</i> )	Дольки луковицы	[10]
Шалфей лекарственный	<i>Salvia officinalis</i> L.	Яснотковые ( <i>Lamiaceae</i> )	Листья, соцветия	[44]
Растительные экстракты				
Бадан толстолистный	<i>Bergenia crassifolia</i> L.	Камнеломковые ( <i>Saxifragaceae</i> )	Корневище	[28]
Дуб обыкновенный	<i>Quercus robur</i> L.	Буковые ( <i>Fagaceae</i> )	Кора	[45]
Кедр сибирский	<i>Pinus sibirica</i> Du Tour	Сосновые ( <i>Pinaceae</i> )	Хвоя	[5]
Лук репчатый	<i>Allium cepa</i> L.	Луковые ( <i>Allioideae</i> )	Луковица	[43]
Орех манчжурский	<i>Juglans mandshurica</i> Maxim.	Ореховые ( <i>Juglandaceae</i> )	Листья	[46]
Ротанговая пальма	<i>Calamus rotang</i> L.	Пальмовые ( <i>Arecaceae</i> )	Корневище	[35]

Относительное количество отдельных компонентов было рассчитано по хроматограммам и выражено в процентах площади пика по отношению к площади пика от общего объема пробы. Идентификацию компонентов проводили путем сравнения их относительного времени удержания и масс-спектров со значениями для эталонных

соединений при помощи библиотеки спектров Nist (National Institute of Standards and Technology, США) [7].

Для получения стабильной масляной эмульсии эфирные масла растворяли до 5%-ной концентрации в 2,5%-ном Tween 20 (Duchefa Farma B.V., Haarlem, Нидерланды). В качестве положительного контроля использовали 4%-ный раствор антибиотика гентамицина (ДальХимФарм. Хабаровск, Россия).

Первичный скрининг антибактериальной активности эфирных масел и экстрактов растений по отношению к пектолитическим бактериям проводили методом диффузии в агаре. Для этого 200 мкл суспензии бактерий в концентрации  $10^8$  КОЕ/мл высевали в чашку Петри с питательной средой YD (YDC без  $\text{CaCO}_3$ ). Через 30 мин на поверхность засеянной среды раскладывали стерильные диски фильтровальной бумаги диаметром 5 мм, пропитанные 5 мкл тестируемого эфирного масла или экстракта. В качестве отрицательного контроля использовали диски с 5 мкл 2,5%-ного водного раствора Tween 20.

Положительным контролем служили диски, пропитанные 5 мкл 4%-ного раствора гентамицина. Диски с нанесенными на них растворами помещали в центр инокулированной суспензией бактерии чашки Петри с агаром и инкубировали при  $28^\circ\text{C}$  в течение 24 ч. Диаметр стерильных зон, образовавшихся на бактериальном газоне, измеряли штангенциркулем без учета значения диаметра диска. Эфирные масла и экстракты растений, показавшие наибольшие зоны ингибирования роста бактерий, использовали в последующих опытах по определению МИК и МБК. Эксперимент был проведен в трехкратной повторности, результат представлен как среднее арифметическое по варианту  $\pm$  стандартное отклонение [11].

Тест на определение значений МИК проводили в стерильном 96-луночном планшете (Corning, США) с использованием метода разведения питательного бульона. В первую ячейку планшеты вносили 40 мкл 5%-ного эфирного масла, после чего со 2 по 9 ячейку включительно вносили по 20 мкл жидкой среды YD и проводили в обозначенных ячейках серийные двухкратные разведения масла в бульоне. Из последней, 9 ячейки, удаляли по 20 мкл питательной среды. Далее добавляли в каждую из 9 ячеек по 10 мкл суспензии бактерии в жидкой среде YD в концентрации  $10^6$  КОЕ/мл по 10 мкл 0,1%-ного резазурина и по 160 мкл жидкой среды. 10 лунка служила контролем без масла, 11 лунка – контролем без резазурина, 12 лунка – контролем без бактериальной суспензии. Обозначенные лунки доводили до 200 мкл с помощью жидкой среды.

Таким образом, исследуемые концентрации эфирных масел варьировали в диапазоне от 1 до 0,004% [33].

Планшет инкубировали при  $28^\circ\text{C}$  в течение 24 ч. После истечения установленного времени оценивали окраску лунок планшета. Синий или фиолетовый цвет свидетельствовал об отсутствии роста бактериальной культуры в лунке, розовый цвет, наоборот, указывал на рост бактерий. Значение МИК было взято при наименьшей концентрации антибактериальных агентов, ингибирующих рост бактерий (цвет оставался синим) [11].

МБК для эфирных масел был определен как самая низкая концентрация антибактериальных агентов, способная полностью исключить рост бактерий. Тест МБК проводили путем переноса 20 мкл бульона из лунок, окрашенных в результате вышеописанного теста в синий/фиолетовый цвет на агаризованную среду YD. Затем чашки инкубировали при  $28^\circ\text{C}$  в течение 24 ч, по прошествии этого времени отмечали самую низкую концентрацию масла, при которой не наблюдался видимый рост колоний после культивирования на питательной среде. Это значение принимали за МБК.

Для получения стабильных растворов водные и спиртовые экстракты растений растворяли до 50%-ной концентрации в ДМСО. В качестве положительного контроля брали 4%-ный раствор антибиотика гентамицина.

Исследования антибактериальной активности растительных экстрактов были проведены по той же методике, по которой определяли МИК, но без внесения в лунки планшеты раствора резазурина. Сами разведения проводили в лунках с 1 по 5 таким образом, чтобы исследуемые концентрации растительных экстрактов варьировали в диапазоне от 10 до 0,625%. 6 лунка служила контролем без экстракта, 7 лунка – контролем без бактериальной суспензии.

Планшет инкубировали при 28°C в течение 24 ч, после чего отбирали по 10 мкл культуры бактерий из каждой лунки планшеты, проводили десятикратные разведения и высевали на агаризованную среду YD. Через 24 ч инкубации при 28°C сравнивали количество колоний в исследуемых образцах с количеством колоний в контроле. Для каждого экстракта самая низкая концентрация, которая препятствовала росту микроорганизмов, была обозначена как МИК. Концентрация экстракта, при которой после посева смеси не было роста бактериальных колоний, была обозначена как МБК [4].

Дополнительно оценивали жизнеспособность бактерий в питательном бульоне с экстрактами растений по способности к мацерации ломтиков клубней картофеля. Для этой цели ломтики картофеля инокулировали 10 мкл культуры бактерий в жидкой питательной среде из каждой лунки планшеты и помещали в чашки Петри в условия влажной камеры. Герметично упакованные чашки Петри инкубировали в термостате в течение 24 ч при 28°C. По прошествии этого времени оценивали диаметр мацерации ломтика картофеля при помощи штангенциркуля.

Для оценки лечебной и профилактической активности эфирных масел и экстрактов растений против возбудителей черной ножки картофеля *in vivo* были отобраны клубни картофеля средней семенной фракции сорта Ресурс. В каждом варианте использовали по 5 клубней. Клубни поверхностно стерилизовали 96%-ным раствором этанола, промывали под проточной водой и сушили в течение 12 ч при комнатной температуре.

При постановке опыта по оценке лечебной активности антибактериальных агентов клубни травмировали ножом, нанося рану глубиной 6 мм и диаметром 2 мм вдоль продольной оси клубня. Инокуляцию клубней проводили путем внесения 20 мкл бактериальной суспензии с концентрацией  $10^6$  КОЕ/мл в рану. Обработку эфирными маслами и экстрактами проводили спустя 4 ч, равномерно распределяя раствор по поверхности клубня из расчета 10 мл раствора/100 г клубня, и оставляли для просушивания при комнатной температуре на 5 ч.

Для оценки профилактического действия эфирных масел и экстрактов растений клубни картофеля вначале травмировали, как описано выше, после чего обрабатывали растворами антибактериальных агентов и оставляли для просушивания. Затем приступали к инокуляции клубней в места ранений суспензией патогенных штаммов и оставляли еще на 4 ч при комнатной температуре до впитывания суспензии.

Помимо обработанных антибактериальными агентами клубней, в эксперимент включали образцы положительного контроля (клубни, инокулированные бактериальной суспензией и обработанные раствором 2,5%-ного Tween 20 в случае с эфирными маслами, дистиллированной водой – в случае с экстрактами растений) и отрицательного контроля (клубни, обработанные дистиллированной водой, без инокуляции бактериями).

После просушивания все клубни помещали в условия влажной камеры в стерильные пластиковые боксы и инкубировали при 25°C в течении 5 дней [17].

Через установленное время обработанные эфирными маслами/экстрактами растений и контрольные клубни разрезали вдоль продольной оси и поперек места инокуляции для измерения диаметра (D, мм) и глубины мацерации (d, мм). Влияние эфирных масел и экстрактов оценивали по 2 показателям: глубине мацерации клубня (Р) и биологической эффективности от применения масел и экстрактов (БЭ).

Глубину мацерации рассчитывали по формуле [29]:

$$P, \text{мм} = \frac{[(D/2) + (d - 6)]}{2} \quad (1)$$

Биологическую эффективность рассчитывали по формуле [41]:

$$\text{БЭ, \%} = \left[ \frac{(D_{\text{Положительный контр.}} - D_{\text{Добработка маслом / экстрактом}})}{D_{\text{Положительный контр.}}} \right] \times 100. \quad (2)$$

### Результаты и их обсуждение

Первичный скрининг антибактериальной активности 25 эфирных масел и 7 экстрактов растений методом диффузии в агаре показал различную степень антибактериальной активности в отношении 4 исследуемых штаммов пектолитических бактерий (рис. 1): высокую (зона ингибирования 15,0 мм и более), умеренную (зона ингибирования от 10,0 до 14,9 мм) и низкую (зона ингибирования менее 10,0 мм). При этом диаметр зоны варьировал как в зависимости от тестируемого эфирного масла или экстракта, так и от штамма (табл. 2).



**Рис. 1.** Зоны ингибирования бактерии вокруг дисков с эфирными маслами и экстрактами растений на газонах возбудителей черной ножки картофеля:

- А – диск с эфирным маслом коричника китайского на газоне *D. chrysanthemi*;  
Б – диск с эфирным маслом гвоздичного дерева на газоне *P. carotovorum subs. odoriferum*;  
В – диски с растительными экстрактами ореха манчжурского (1), кедра сибирского (2) и бадана толстолистного (спиртового) (3) на газоне *D. dadantii*

Ввиду большого количества образцов и штаммов задачами первичного скрининга явились селекция наиболее активных веществ и их дальнейшее подробное исследование. В связи с этим для последующих исследований были выбраны эфирные масла душицы обыкновенной, коричника китайского, тмина обыкновенного, пихты сибирской, кориандра посевного, тимьяна обыкновенного, чабера садового и гвоздичного дерева.

Среди растительных экстрактов величина зон ингибирования варьировала в основном в умеренном диапазоне. При этом ни один экстракт, кроме экстракта дуба обыкновенного, не проявлял антибактериальных свойств одновременно ко всем исследуемым патогенам. Однако каждый растительный экстракт проявлял умеренную антибактериальную активность по крайней мере к одному из исследуемых видов пектобактерий, в связи с чем было решено использовать все экстракты на следующем этапе скрининга.

Стоит также отметить, что отобранные эфирные масла и экстракты растений проявили высокую антибактериальную активность по сравнению с антибиотиком гентамицином, зоны ингибирования которого соответствовали низкой степени антибактериальной активности (от 7,6 до 9,2 мм). В положительном контроле с применением эмульгатора Tween 20 зон ингибирования роста бактерий не наблюдалось.

**Значения диаметров зон ингибирования при оценке антибактериальной активности эфирных масел и экстрактов растений против возбудителей черной ножки картофеля методом диффузии на диске, мм (ВЭ – водный экстракт, СЭ – спиртовой экстракт)**

Источник выделения	Диаметр стерильной зоны, мм (среднее значение ± стандартное отклонение)			
	<i>D. chrysanthemi</i>	<i>P. carotovorum</i> <i>subs. odoriferum</i>	<i>D. dadantii</i>	<i>P. carotovorum</i> <i>subsp. carotovorum</i>
Эфирные масла				
Анис обыкновенный	7,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	7,3 ± 0,6	7,0 ± 0,0
Гвоздичное дерево	20,6 ± 1,5	18,0 ± 1,0	15,3 ± 0,6	15,6 ± 0,6
Душица обыкновенная	26,0 ± 1,7	34,6 ± 1,1	30,3 ± 0,6	32,6 ± 1,1
Кардамон настоящий	9,0 ± 0,0	9,6 ± 0,6	8,6 ± 0,6	8,0 ± 0,0
Кориандр посевной	11,0 ± 0,0	14,3 ± 1,1	16,3 ± 0,6	15,0 ± 0,0
Коричник китайский	27,0 ± 1,7	19,6 ± 0,6	21,6 ± 1,5	29,0 ± 1,0
Лаванда узколистная	10,0 ± 0,0	7,0 ± 0,0	9,0 ± 1,4	8,0 ± 0,0
Лайм настоящий	12,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0	10,3 ± 0,6	7,6 ± 0,6
Мандарин Клементин	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Мята длиннолистная	9,0 ± 1,4	9,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
Мята перечная	7,5 ± 0,7	9,0 ± 1,4	10,0 ± 0,0	10,0 ± 1,4
Пижма обыкновенная	10,6 ± 0,6	8,0 ± 0,0	9,6 ± 0,6	9,3 ± 0,6
Пихта сибирская	11,6 ± 0,6	17,3 ± 1,1	20,3 ± 0,6	18,0 ± 0,0
Розмарин обыкновенный	12,3 ± 0,6	10,0 ± 0,0	13,0 ± 1,1	14,3 ± 0,6
Ротанговая пальма	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,6 ± 0,6
Рута душистая	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	10,6 ± 0,6	0,0 ± 0,0
Тимьян обыкновенный	22,0 ± 1,4	15,0 ± 0,0	21,0 ± 2,1	23,0 ± 0,0
Тмин обыкновенный	18,3 ± 0,6	10,6 ± 0,6	11,3 ± 1,1	12,3 ± 0,6
Тысячелистник обыкновенный	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Фенхель обыкновенный	9,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	9,6 ± 0,6	8,6 ± 0,6
Цитрус бергамот	11,0 ± 0,0	13,6 ± 1,1	13,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Чабер садовый	27,3 ± 2,1	14,6 ± 0,5	27,6 ± 0,6	27,6 ± 1,1

Источник выделения	Диаметр стерильной зоны, мм (среднее значение $\pm$ стандартное отклонение)			
	<i>D. chrysanthemi</i>	<i>P. carotovorum</i> <i>subs. odoriferum</i>	<i>D. dadantii</i>	<i>P. carotovorum</i> <i>subsp. carotovorum</i>
Чёрный тмин	8,5 $\pm$ 0,6	0,0 $\pm$ 0,0	8,0 $\pm$ 0,0	8,0 $\pm$ 0,0
Чеснок посевной	8,3 $\pm$ 0,6	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
Шалфей лекарственный	12,3 $\pm$ 0,6	0,0 $\pm$ 0,0	8,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
Растительные экстракты				
Бадан толстолистный (ВЭ)	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,6	14,6 $\pm$ 0,6
Бадан толстолистный (СЭ)	11,6 $\pm$ 0,6	14,7 $\pm$ 1,1	9,0 $\pm$ 1,0	18,3 $\pm$ 1,5
Дуб обыкновенный (СЭ)	10,3 $\pm$ 0,6	12,0 $\pm$ 0,0	11,6 $\pm$ 0,6	15,6 $\pm$ 1,1
Кедр сибирский (ВЭ)	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	9,0 $\pm$ 0,0	10,3 $\pm$ 0,6
Лук репчатый (ВЭ)	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	10,0 $\pm$ 1,0	15,3 $\pm$ 0,6
Орех манчжурский (ВЭ)	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	14,6 $\pm$ 0,6	13,6 $\pm$ 1,1
Ротанговая пальма (СЭ)	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	12,6 $\pm$ 0,6
Стандарт				
Гентамицин	7,6 $\pm$ 1,1	8,5 $\pm$ 0,0	9,2 $\pm$ 0,6	8,0 $\pm$ 0,0

Для подтверждения данных об антибактериальных свойствах 8 эфирных масел и 7 экстрактов растений определяли наименьшую их концентрацию, ингибирующую рост бактерий (МИК), и минимальную бактерицидную концентрацию, приводящую к гибели бактерий (МБК), методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде (табл. 3).

Значения МИК тестируемых эфирных масел варьировали в диапазоне от 1,25 до 10,0 мг/мл. При этом только значения эфирных масел душицы обыкновенной, коричника китайского и гвоздичного дерева находились в минимальном диапазоне: от 1,25 до 2,5 мг/мл. Наименьшие показатели МБК по отношению ко всем используемым бактериальным штаммам также были отмечены у трех вышеперечисленных масел, в связи с чем только эти масла были использованы для последующих исследований.

Антибактериальную активность экстрактов растений оценивали путем культивирования на агаризированной среде аликвот смеси питательного бульона с растительными экстрактами и бактериальным инокулятом, отмечая минимальную концентрацию экстракта, при которой не наблюдался рост бактериальных колоний (рис. 2). Проводили также оценку степени мацерации ломтиков картофеля, инокулированных аликвотами той же смеси (рис. 3).

Значения МИК растительных экстрактов оказались значительно выше, чем МИК эфирных масел, и колебались в основном в диапазоне от 12,5 до 100,0 мг/мл (табл. 3). Экстракты, значения МИК которых по отношению хотя бы к одному из используемых патогенов превышали 100,0 мг/мл, были определены как низкоэффективные и в дальнейших исследованиях не использовались.

**Значения МИК и МБК эфирных масел и экстрактов растений  
при оценке антибактериальной активности против возбудителей  
черной ножки картофеля методом разведения в жидкой питательной среде, %  
(ВЭ – водный экстракт, СЭ – спиртовой экстракт)**

Источник выделения	Минимальная ингибирующая концентрация (МИК), %				Минимальная бактерицидная концентрация (МБК), %			
	<i>D. chrysanthemi</i>	<i>P. carotovorum</i> subs. <i>odori-ferum</i>	<i>D. dantii</i>	<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	<i>D. chrysanthemi</i>	<i>P. carotovorum</i> subs. <i>odori-ferum</i>	<i>D. dantii</i>	<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>
Эфирные масла								
Гвоздичное дерево	0,25	0,25	0,25	0,125	0,5	0,5	0,5	0,25
Душица обыкновенная	0,25	0,125	0,25	0,125	0,5	0,25	0,5	0,5
Кориандр посевной	1,0	1,0	0,5	1,0	>1,0	>1,0	1,0	>1,0
Коричник китайский	0,125	0,25	0,125	0,125	0,25	0,5	0,5	0,25
Пихта сибирская	1,0	0,5	0,5	0,5	>1,0	>1,0	1,0	>1,0
Тимьян обыкновенный	1,0	1,0	0,5	0,5	>1,0	>1,0	>1,0	1,0
Тмин обыкновенный	0,5	1,0	1,0	1,0	>1,0	>1,0	>1,0	>1,0
Чабер садовый	0,5	1,0	0,5	0,5	>1,0	>1,0	1,0	1,0
Растительные экстракты								
Бадан толстолистный (ВЭ)	>10,0	10,0	>10,0	>10,0	не определена	>10,0	не определена	не определена
Бадан толстолистный (СЭ)	5,0	1,25	5,0	2,5	10,0	2,5	10,0	5,0
Дуб обыкновенный (СЭ)	5,0	1,25	2,5	2,5	10,0	2,5	5,0	5,0
Кедр сибирский (ВЭ)	>10,0	>10,0	>10,0	10,0	не определена	не определена	не определена	>10,0
Лук репчатый (ВЭ)	>10,0	>10,0	10,0	10,0	не определена	не определена	>10,0	>10,0
Орех манчжурский (ВЭ)	>10,0	>10,0	10,0	10,0	не определена	не определена	>10,0	>10,0
Ротанговая пальма (СЭ)	>10,0	>10,0	>10,0	10,0	не определена	не определена	не определена	>10,0

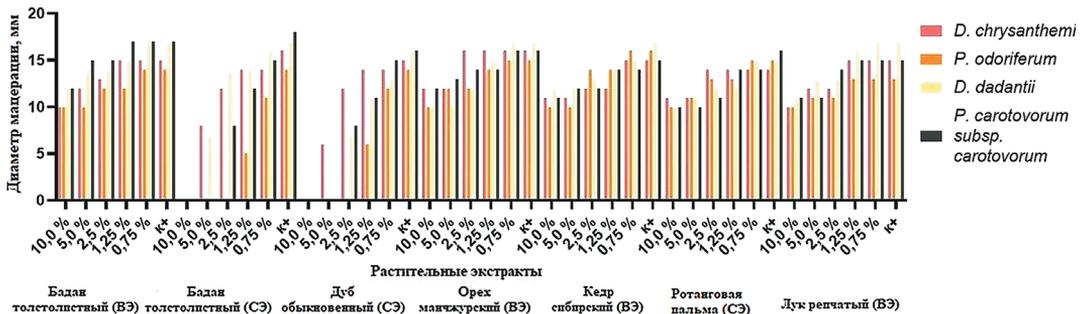
Таким образом, в качестве наиболее эффективных растительных экстрактов были отобраны этанольные экстракты бадана толстолистного и дуба обыкновенного, значения МИК которых варьировали в диапазоне от 12,5 до 50,0 мг/мл по отношению ко всем исследуемым пектобактериям.

Значения МБК растительных экстрактов подтверждали данные, полученные в результате оценки мацерации ломтиков картофеля и представленные на рисунке 3. Так, для тех экстрактов, чьи значения МБК были определены, мацерация на ломтиках отсутствовала вплоть до достижения значений МИК. Например, для штамма *P. carotovorum subs. odoriferum* значения МБК экстракта бадана толстолистного и МБК экстракта дуба обыкновенного составляли 25 мг/мл, а при инокулировании ломтиков картофеля аликвотами смеси культуры бактерий с экстрактами, в соответствующих концентрациях, зоны мацерации отсутствовали (рис. 4).

Таким образом, мацерация на ломтиках начинает проявляться лишь с концентраций экстрактов, соответствующих значениям МИК, что подтверждает объективность значений МБК экстрактов.



**Рис. 2.** Оценка антибактериальной активности экстрактов растений по отношению к возбудителю черной ножки картофеля путем культивирования на агаризированной среде разведений смеси питательного бульона с растительными экстрактами: 1–5 – концентрации растительных экстрактов от 10,0 до 0,625%; 6 – контроль без добавления суспензии бактерий; 7 – контроль без растительного экстракта

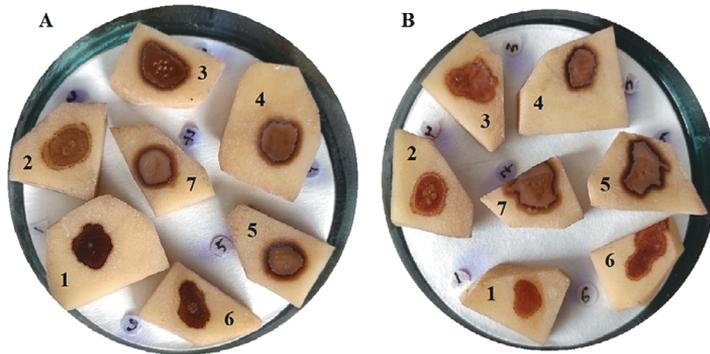


**Рис. 3.** Значения диаметров зон мацерации ломтиков картофеля при оценке антибактериальной активности растительных экстрактов против возбудителей черной ножки методом инокуляции ломтиков аликвотами разведений культуры бактерий в смеси жидкой питательной среды с растительными экстрактами, мм

Были проведены эксперименты по оценке профилактического и лечебного действия эфирных масел и растительных экстрактов против развития черной ножки на клубнях картофеля.

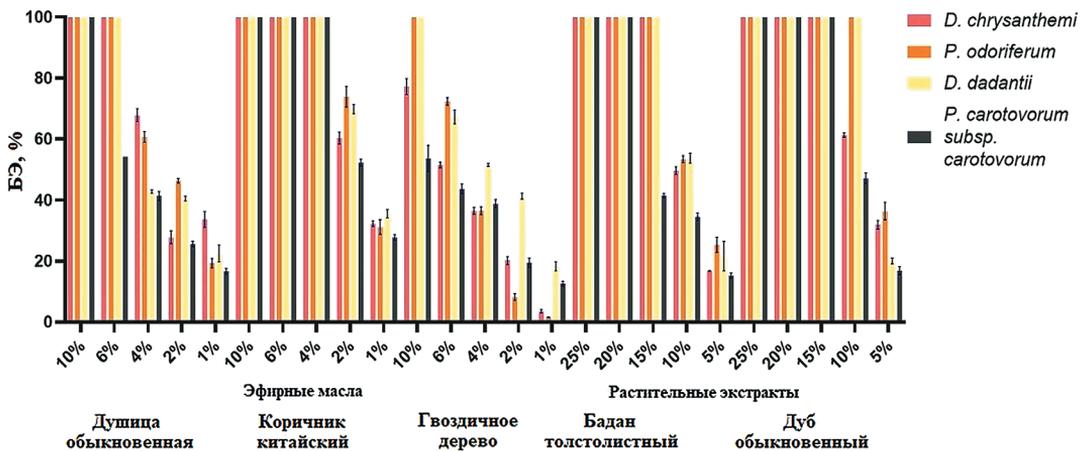
При профилактическом применении эфирных масел против используемых патогенных штаммов была достигнута 100%-ная биологическая эффективность при использовании эфирного масла душицы обыкновенной в диапазоне концентраций 60–100 мг/мл, эфирного масла коричника китайского в концентрации 40 мг/мл и эфирного масла гвоздичного дерева в концентрации 100 мг/мл (против *P. carotovorum subs. odoriferum* и *D. dadantii*) (рис. 5). При концентрации масла в 10 мг/мл БЭ варьировала

в основном в диапазоне от 17,6 до 36,5% (для масел душицы обыкновенной и коричника китайского). Минимальные значения БЭ были отмечены при применении эфирного масла гвоздичного дерева против штаммов *D. chrysanthemi* и *P. carotovorum subsp. odoriferum* и составили 3,1 и 1,6% соответственно.



**Рис. 4.** Оценка антибактериальной активности экстрактов растений по отношению к возбудителям черной ножки картофеля путем оценки мацерации на ломтиках картофеля, инокулированных аликвотами разведений культуры бактерий в жидкой питательной среде с добавлением растительных экстрактов:  
 А – экстракт дуба обыкновенного + суспензия *P. carotovorum subsp. carotovorum*;  
 Б – экстракт бадана толстолистного + суспензия *P. carotovorum subsp. carotovorum*;  
 1–5 – концентрации растительных экстрактов от 10,0 до 0,625%;  
 6 – контроль без добавления суспензии бактерий; 7 – контроль без растительного экстракта

При профилактическом использовании растительных экстрактов на клубнях, обработанных экстрактом бадана толстолистного в диапазоне концентрации 150–200 мг/мл и экстрактом дуба обыкновенного в концентрации 100–150 мг/мл, также была достигнута 100%-ная БЭ. При снижении концентраций экстрактов до минимальной используемой концентрации в 50 мг/мл БЭ при профилактическом применении варьировала от 14,3 до 35,8%.



**Рис. 5.** Биологическая эффективность в защите клубней от черной ножки при профилактической обработке эфирными маслами и экстрактами, %

Биологическая эффективность при лечебном применении эфирных масел оказалась значительно ниже, чем при профилактической обработке. При максимальных из исследуемых концентраций масел БЭ варьировала в диапазоне от 35,6 до 69,9%,

когда первое значение отмечено по отношению к *P. carotovorum subsp. carotovorum* с обработкой эфирным маслом гвоздичного дерева, а второе значение – к *D. dadantii* в сочетании с обработкой эфирным маслом коричника китайского (рис. 6). При снижении концентрации эфирных масел до 10 мг/мл БЭ варьировала от 0,8% для *D. chrysanthemi* и обработки эфирным маслом гвоздичного дерева – до 26,9% для *P. carotovorum subsp. odoriferum* с применением эфирного масла коричника китайского.

100%-ная биологическая эффективность не была достигнута при лечебном применении растительных экстрактов. Значения БЭ варьировали в диапазоне от 40,2 до 71,3% при концентрации экстрактов 200 мг/мл, когда первое значение отмечено по отношению к *P. carotovorum subsp. carotovorum* с обработкой экстрактом бадана толстолистного, а второе значение – к *D. chrysanthemi* при обработке экстрактом дуба обыкновенного. При использовании растительных экстрактов в концентрации 50 мг/мл БЭ варьировала от 1,1% для экстракта бадана толстолистного против *P. carotovorum subsp. carotovorum* и до 22,4% – экстракта дуба обыкновенного против *P. carotovorum subsp. odoriferum*.

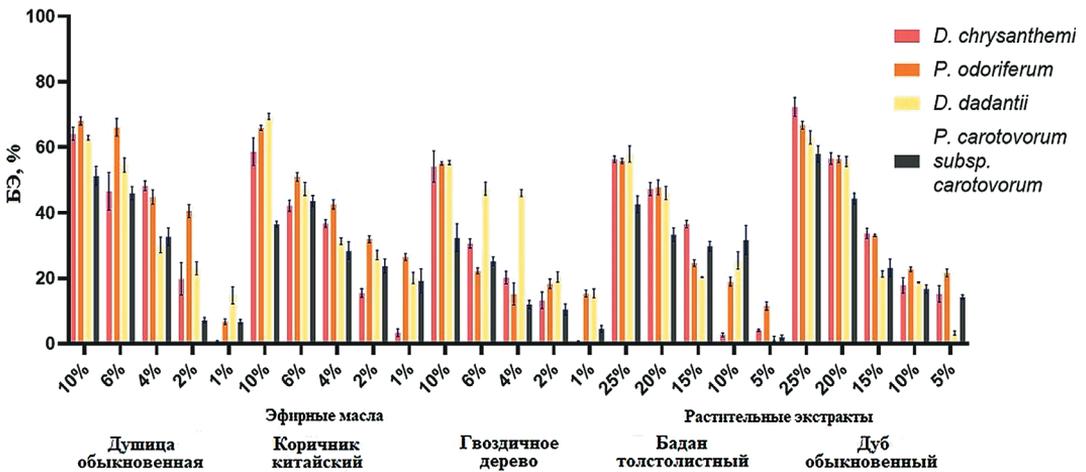


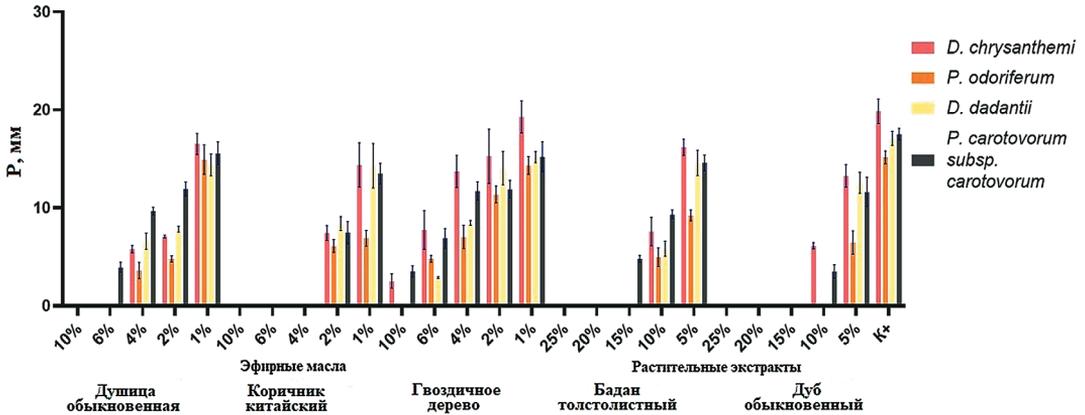
Рис. 6. Биологическая эффективность от применения обработки эфирными маслами и экстрактами клубней картофеля, предварительно инокулированных возбудителями черной ножки, %

На обработанных эфирными маслами и растительными экстрактами клубнях наблюдали значительное снижение глубины мацерации по сравнению с необработанными образцами (рис. 7).

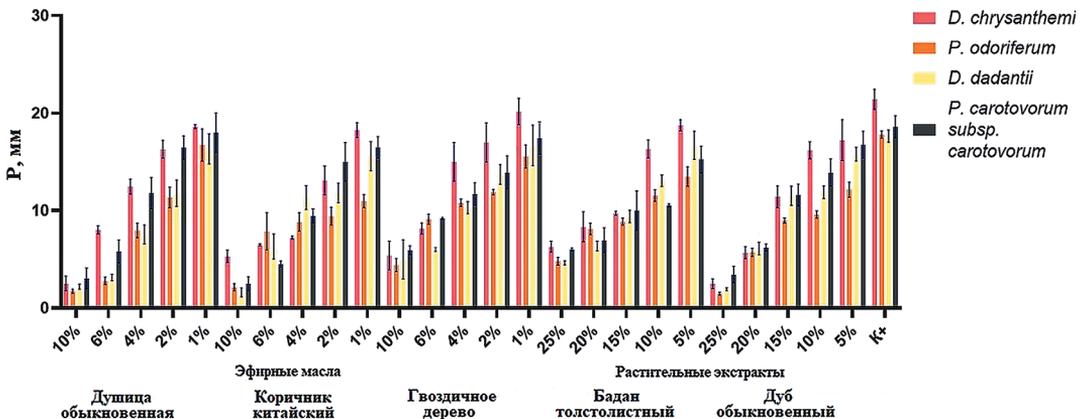
В вариантах, показавших 100%-ную БЭ при профилактической обработке, соответственно не отмечалась мацерация. Дальнейшее же снижение концентрации эфирных масел и экстрактов приводило к увеличению глубины проникновения патогена в клубни. Однако даже при концентрации масла 10 мг/мл глубина проникновения мацерации на обработанных клубнях была ниже, чем в контрольном варианте. Например, минимальное значение глубины мацерации при использовании эфирных масел в концентрации 10 мг/мл было зафиксировано против *P. carotovorum subsp. odoriferum* при предварительной обработке маслом коричника китайского и составило лишь 7,2 мм против 14,5 мм в контроле. При снижении концентрации растительных экстрактов до 50 мг/мл значение Р варьировало от 7,5 мм для *P. carotovorum subsp. odoriferum* с применением экстракта дуба обыкновенного против 14,5 мм в контроле до 16,0 мм для *D. chrysanthemi* с обработкой экстрактом бадана толстолистного против 19,2 мм в контроле.

В тесте по оценке лечебного действия глубина мацерации клубня при применении эфирных масел и экстрактов при их максимальных из тестируемых концентрациях

варьировала от 1,6 до 6,2 мм по сравнению с 17,1–20,4 мм в контрольном варианте, что несколько хуже результатов, полученных при профилактическом действии эфирных масел (рис. 8). Минимальное значение Р при обработке эфирными маслами в концентрации 10 мг/мл было зафиксировано на варианте с обработкой маслом коричника китайского против *P. carotovorum subsp. odoriferum* и составило 11,4 мм. Среди экстрактов в концентрации 50 мг/мл диапазон значений Р варьировал от 11,3 мм для *P. carotovorum subsp. odoriferum* в варианте с обработкой экстрактом дуба обыкновенного до 18,9 мм для *D. chrysanthemi* с обработкой экстрактом бадана толстолистного, что также оказалось ниже соответствующих значений в контроле.



**Рис. 7.** Влияние предварительной обработки эфирными маслами и экстрактами на глубину мацерации клубней картофеля, инокулированных возбудителями черной ножки, мм

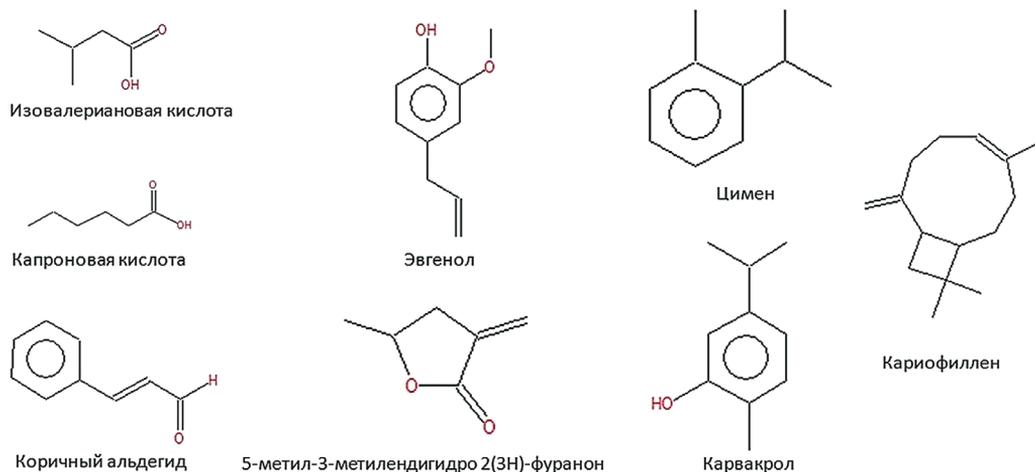


**Рис. 8.** Влияние предварительной обработки эфирными маслами и экстрактами на глубину мацерации клубней картофеля, предварительно инокулированных возбудителями черной ножки, мм

Образцы эфирных масел и экстрактов растений оценивали качественно и количественно с помощью ГХ–МС и ГХ–ПИД соответственно. Компоненты, преобладающие в составе эфирных масел и экстрактов растений, представлены на рисунке 9.

Всего при анализе трех эфирных масел и 2 растительных экстрактов было идентифицировано: 24 соединения в составе эфирного масла душицы обыкновенной (карвакрол (62,32%), цимен (19,85%), гамма-терпинен (4,85%), тимол (3,52%), линалоол (2,53%) и т.д.); 18 соединений – в составе эфирного масла коричника китайского (коричный альдегид (84,25%), о-метоксикоричный альдегид (6,91%), диметил

ацеталь коричного альдегида (3,36%) и т.д.); 16 соединений – в составе эфирного масла гвоздичного дерева (эвгенол (76,98%), кариофиллен (14,91%), ацетат эвгенола (2,97%) и т.д.); 22 соединения – в составе экстракта бадана толстолистного (уксусная кислота (27,85%), 5-метил-3-метилендигидро 2(3Н)-фуранон (20,32%), эвгенол (10,94%), капроновая кислота (6,91%), метил салицилат (5,22%), пулегон (4,46%), тимол (3,32%) и т.д.); 28 соединений – в составе экстракта дуба обыкновенного (капроновая (28,52%), изовалериановая (28,31%), уксусная (21,88%), 3-метилвалериановая (2,19%), пропионовая (2,18%), 2-метилмасляная (1,89%), валериановая (1,77%) кислоты и т.д.).



**Рис. 9.** Структурные формулы основных соединений, содержащихся в исследуемых эфирных маслах и растительных экстрактах

В результате анализа источников литературы было установлено обладание антибактериальными свойствами всеми основными компонентами исследуемых нами биологически активных веществ, что подтверждают многочисленные исследования. Так, при исследовании эфирного масла коричника китайского преобладающим веществом в его составе выступал коричный альдегид [19], были отмечены его антибактериальные свойства по отношению к некоторым грамотрицательным бактериям. Также сообщалось об антибактериальных свойствах карвакрола и эвгенола по отношению к пектолитическим бактериям [3]. Кислоты же, преобладающие в составе экстрактов бадана толстолистного и дуба обыкновенного, встречаются при анализе многих других растительных экстрактов и аналогично вышеописанным веществам обладают антибактериальными свойствами по отношению к широкому кругу патогенов [9, 20, 28, 45, 46].

## Выводы

При тестировании *in vitro* эфирных масел и экстрактов растений была отмечена высокая антибактериальная активность эфирных масел душицы обыкновенной, коричника китайского и гвоздичного дерева, а также этанольных экстрактов бадана толстолистного и дуба обыкновенного против четырех штаммов возбудителей черной ножки картофеля из родов *Pectobacterium* и *Dickeya*. В тестах *in vivo* данные эфирные масла и экстракты также проявляли свои антибактериальные свойства, предотвращая развитие мацерации на клубнях картофеля как при профилактическом, так и при лечебном применении.

Установлено, что при лечебном применении вышеописанных эфирных масел в концентрации 40 мг/мл и выше их биологическая эффективность варьировала от 20,3 до 48,7%,

а при профилактическом применении – от 35,3 до 100%. Биологическая эффективность от профилактического использования растительных экстрактов в концентрации 150 мг/мл и более составляла 41,4–100,0%, а при лечебном использовании – 20,3–36,5%.

Полученные данные указывают на потенциал применения эфирных масел и растительных экстрактов в защите картофеля от бактериозов.

*Работа выполнена за счет средств Программы развития университета в рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».*

*Авторы выражают благодарность агроному Ботанического сада Первого Московского государственного медицинского университета Ю.Б. Рогачеву за помощь в сборе и видовой идентификации лекарственных растений.*

### Библиографический список

1. Ха В.Т.Н., Джалилов Ф.С.У. Антибактериальная активность эфирных масел и их использование для обеззараживания семян капусты от сосудистого бактериоза // Известия ТСХА. – 2014. – № 6. – С. 59–68.
2. Alam A., Rehman N.U., Ansari M.N., Palla A.H. Effects of essential oils of *Elettaria cardamomum* grown in India and Guatemala on gram-negative bacteria and gastrointestinal disorders // *Molecules*. – 2021. – Т. 26, № 9. – С. 2546.
3. Alkan D., Yemencioğlu A. Potential application of natural phenolic antimicrobials and edible film technology against bacterial plant pathogens // *Food Hydrocolloids*. – 2016. – Т. 55. – С. 1–10.
4. Ambrico A., Trupo M., Magarelli R., Balducchi R., Ferraro A., Hristoforou E. Effectiveness of *Dunaliella salina* extracts against *Bacillus subtilis* and bacterial plant pathogens // *Pathogens*. – 2020. – Т. 9, № 8. – С. 613.
5. Amri I., Gargouri S., Hamrouni L., Hanana M., Fezzani T., Jamoussi B. Chemical composition, phytotoxic and antifungal activities of *Pinus pinea* essential oil // *Journal of pest science*. – 2012. – Т. 85, № 2. – С. 199–207.
6. Baghaee-Ravari S.B., Moslemkhani K., Khodaygan P. Assessment of genetic variability of prevalent pectinolytic bacteria causing potato tuber soft rot in eastern Iran // *Journal of Plant Pathology*. – 2013. – С. 107–113.
7. Baharum S.N., Bunawan H., Ghani M.A.A., Mustapha W.A.W., Noor N.M. Analysis of the chemical composition of the essential oil of *Polygonum minus* Huds. using two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF MS) // *Molecules*. – 2010. – Т. 15, № 10. – С. 7006–7015.
8. Behidj-Benyounes N., Letifi S., Slamani L., Itouchene D., Dahmane T. STUDY OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF A RANGE OF PLANT EXTRACTS AGAINST THE CAUSATIVE AGENT OF POTATO BLACKLEG DISEASE (PECTOBACTERIUM) // *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM*. – 2017. – Т. 17. – С. 999–1006.
9. Bhardwaj S.K., Laura J.S. Potential use of some plant-extracts against *Fusarium moniliforme* // *ORYZA-An International Journal on Rice*. – 2008. – Т. 45, № 1. – С. 48–52.
10. Bhat K.A., Viswanath H.S., Bhat N.A., Wani T.A. Bioactivity of various ethanolic plant extracts against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing soft rot of potato tubers // *Indian Phytopathology*. – 2017. – Т. 70, № 4. – С. 463–470.
11. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*; Approved Standard, 10th ed.; CLSI document M07-A10; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2015.

12. Dhaliwal H.J.S., *Thind T.S., Chander M.* Relative activity of essential oils from plants against *Penicillium digitatum* causing post-harvest fruit rot of Kinnow mandarin // *Plant Dis. Res.* – 2004. – T. 19. – C. 140–143.
13. El Gendy A.N., *Leonardi M., Mugnaini L., Bertelloni F., Ebani V.V., Nardoni S., Manciantic F., Hendawya S., Omer E., Pistelli L.* Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of wild and cultivated *Origanum syriacum* plants grown in Sinai, Egypt // *Industrial Crops and Products.* – 2015. – T. 67. – C. 201–207.
14. *Fisher K., Phillips C.A.* The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems // *Journal of applied microbiology.* – 2006. – T. 101, № 6. – C. 1232–1240.
15. *Gebarowska E., Politowicz J., Szumny A.* Chemical composition and antimicrobial activity of *Geranium robertianum* L. essential oil // *Acta poloniae pharmaceutica.* – 2017. – T. 74, № 2. – C. 699–705.
16. *Gerayeli N., Baghaee-Ravari S., Tarighi S.* Evaluation of the antagonistic potential of *Bacillus* strains against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and their role in the induction of resistance to potato soft rot infection // *European Journal of Plant Pathology.* – 2018. – T. 150, № 4. – C. 1049–1063.
17. *Hajian-Maleki H., Baghaee-Ravari S., Moghaddam M.* Herbal essential oils exert a preservative effect against the potato soft rot disease // *Scientia Horticulturae.* – 2021. – T. 285. – C. 110192.
18. *Harborne J.B.* Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Chapman & Hall Pub. – London: UK, 1998.
19. *Huang D.F., Xu J.G., Liu J.X., Zhang H., Hu Q.P.* Chemical constituents, antibacterial activity and mechanism of action of the essential oil from *Cinnamomum cassia* bark against four food-related bacteria // *Microbiology.* – 2014. – T. 83, № 4. – C. 357–365.
20. *Ikeura H., Kobayashi F.* Antimicrobial and antifungal activity of volatile extracts of 10 herb species against *Glomerella cingulata* // *International Journal of Biology.* – 2015. – T. 7, № 9. – C. 77.
21. *Inglis D., Schroeder B.K., Johnson D.A.* Bacterial Soft Rot and Lenticel Spot on Potato Tubers. – Washington State University Extension, 2011.
22. *Javed B., Nadhman A.* Optimization, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles against plant bacterial pathogens phyto-synthesized by *Mentha longifolia* // *Materials Research Express.* – 2020. – T. 7, № 8. – C. 085406.
23. *Jianu C., Pop G., Gruia A., Horhat F.G.* Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania // *International journal of agriculture and biology.* – 2013. – T. 15. – № 4.
24. *Joshi J.R., Burdman S., Lipsky A., Yedidia I.* Effects of plant antimicrobial phenolic compounds on virulence of the genus *Pectobacterium* // *Research in microbiology.* – 2015. – T. 166, № 6. – C. 535–545.
25. *Kalleli F., Ghassen A.B.I.D., Salem I.B., BOUGHALLEB-M'HAMDI N., M'HAMDI M.* Essential oil from fennel seeds (*Foeniculum vulgare*) reduces *Fusarium wilt* of tomato (*Solanum lycopersicon*) // *Phytopathologia Mediterranea.* – 2020. – T. 59, № 1. – C. 63–76.
26. *Khosravipour S., Rezaeian-Doloei R.* Antibacterial activity of *Carum copticum* essential oil against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *Escherichia coli* in nutrient broth medium. – 2015.
27. *Kotan R., Cakir A., Ozer H., Kordali S., Cakmakci R., Dadasoglu F., Kazaz C., Dikbas N., Aydin T.* Antibacterial effects of *Origanum onites* against phytopathogenic

- bacteria: Possible use of the extracts from protection of disease caused by some phytopathogenic bacteria // *Scientia Horticulturae*. – 2014. – T. 172. – C. 210–220.
28. *Kraśniewska K., Gniewosz M., Synowiec A., Przybył J.L., Bączek K., Węglarz Z.* The application of pullulan coating enriched with extracts from *Bergenia crassifolia* to control the growth of food microorganisms and improve the quality of peppers and apples // *Food and bioproducts processing*. – 2015. – T. 94. – C. 422–433.
29. *Lapwood D.H., Read P.J., Spokes J.* Methods for assessing the susceptibility of potato tubers of different cultivars to rotting by *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica* and *carotovora* // *Plant Pathology*. – 1984. – T. 33, № 1. – C. 13–20.
30. *Lemes R.S., Alves C.C., Estevam E.B., Santiago M.B., Martins C.H., Santos T.C.D., Crotti A.E.M., Miranda M.L.* Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Citrus aurantifolia* leaves and fruit peel against oral pathogenic bacteria // *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. – 2018. – T. 90. – C. 1285–1292.
31. *Nahar L., El-Seedi H.R., Khalifa S.A., Mohammadhosseini M., Sarker S.D.* Ruta essential oils: Composition and bioactivities // *Molecules*. – 2021. – T. 26, № 16. – C. 4766.
32. *Nissen L., Zatta A., Stefanini I., Grandi S., Sgorbati B., Biavati B., Monti A.* Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.) // *Fitoterapia*. – 2010. – T. 81, № 5. – C. 413–419.
33. *Nouri M., Baghaee-Ravari S., Emadzadeh B.* Nano-emulsified savory and thyme formulation show limited efficacy to suppress *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* compared with pure oil // *Industrial Crops and Products*. – 2021. – T. 161. – C. 113216.
34. *Oliva M.D.L.M., Carezzano M.E., Giuliano M., Daghero J., Zygodlo J., Bogino P., Giordano W., Demo M.* Antimicrobial activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on phytopathogenic strains isolated from soybean // *Plant Biology*. – 2015. – T. 17, № 3. – C. 758–765.
35. *Radušienė J., Judžentienė A., Pečiulytė D., Janulis V.* Essential oil composition and antimicrobial assay of *Acorus calamus* leaves from different wild populations // *Plant Genetic Resources*. – 2007. – T. 5, № 1. – C. 37–44.
36. *Redfern J., Kinninmonth M., Burdass D., Verran J.* Using Soxhlet ethanol extraction to produce and test plant material (essential oils) for their antimicrobial properties // *Journal of microbiology & biology education*. – 2014. – T. 15, № 1. – C. 45–46.
37. *Rastgou M., Rezaee Danesh Y., Ercisli S., Sayyed R.Z., El Enshasy H.A., Dailin D.J., Alfarraj S., Ansari M.J.* The Effect of Some Wild Grown Plant Extracts and Essential Oils on *Pectobacterium betavascularum*: The Causative Agent of Bacterial Soft Rot and Vascular Wilt of Sugar Beet // *Plants*. – 2022. – T. 11, № 9. – C. 1155.
38. *Ravari S.B., Moslemkhani K., Khodaygan P.* Assessment of genetic variability of prevalent pectinolytic bacteria causing potato tuber soft rot in eastern Iran // *Journal of Plant Pathology*. – 2013. – C. 107–113.
39. *Salamci E., Kordali S., Kotan R., Cakir A., Kaya Y.* Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum* // *Biochemical Systematics and Ecology*. – 2007. – T. 35, № 9. – C. 569–581.
40. *Salamon I., Kryvtsova M., Bucko D., Tarawneh A.H.* Chemical characterization and antimicrobial activity of some essential oils after their industrial large-scale distillation // *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*. – 2021. – T. 2021. – C. 984–988.
41. *Sameza M.L., Nguemnang Mabou L.C., Tchameni S.N., Boat Bedine M.A., Tchoumboungang F., Jazet Dongmo P.M., Boyom Fekam F.* Evaluation of clove essential oil as a mycobiocide against *Rhizopus stolonifer* and *Fusarium solani*, tuber rot causing fungi in yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) // *Journal of Phytopathology*. – 2016. – T. 164, № 7–8. – C. 433–440.

42. Silva F., Ferreira S., Queiroz J.A., Domingues F.C. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry // *Journal of medical microbiology*. – 2011. – T. 60. – № 10. – C. 1479–1486.
43. Soltan H.R., Ahmed S.M., Emam D.A. Comparative antibacterial activity of garlic essential oil extracted by hydro-distillation and diethyl ether extraction methods on four pathogenic bacteria // *Adv Plants Agric Res*. – 2016. – T. 4, № 2. – C. 261–264.
44. Sookto T., Srithavaj T., Thaweboon S., Thaweboon B., Shrestha B. In vitro effects of *Salvia officinalis* L. essential oil on *Candida albicans* / *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. – 2013. – T. 3, № 5. – C. 376–380.
45. Vasilchenko A.S., Poshvina D.V., Sidorov R.Y., Iashnikov A.V., Rogozhin E.A. & Vasilchenko A.V. Oak bark (*Quercus* sp. cortex) protects plants through the inhibition of quorum sensing mediated virulence of *Pectobacterium carotovorum* // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2022. – T. 38, № 11. – C. 1–12.
46. Vieira V., Pereira C., Abreu R.M., Calhella R.C., Alves M.J., Coutinho J.A., Ferreira O., Barros L., Ferreira I.C. Hydroethanolic extract of *Juglans regia* L. green husks: A source of bioactive phytochemicals // *Food and Chemical Toxicology*. – 2020. – T. 137. – C. 111189.
47. Xiao Nan Y., Sun Chul K. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oil from Korean Citrus unshiu peel // *Journal of Agricultural chemistry and Environment*. – 2013. – T. 2013.
48. Zaouali Y., Bouzaine T., Boussaid M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities // *Food and Chemical Toxicology*. – 2010. – T. 48, № 11. – C. 3144–3152.

## EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF ESSENTIAL OILS AND PLANT EXTRACTS AGAINST POTATO BLACKLEG PATHOGENS

A.A. DATSYUK, R.I. TARAKANOV

(Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

*The antibacterial activity of 25 samples of essential oils and seven aqueous samples and ethanolic plant extracts was evaluated against the complex of potato blackleg pathogens *Dickeya chrysanthemi*, *Pectobacterium odoriferum*, *Dickeya didantii* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. To identify the described species, studies of pathogens were carried out in vitro with a skin diffusion test on agar, requiring minimal inhibitory (MIC) and minimal bactericidal concentrations (MBC) of essential oils and plant extracts. Based on the results of screening for studies in the field of health, in vivo conditions, the essential oils of the common oregano, Chinese cinnamon, clove, as well as ethanol extracts of thick-leaved badan and common oak bark were selected. In the course of further testing, the ability of essential oils and extracts to prevent potato tuber maceration when used for prophylactic and therapeutic purposes was evaluated. With therapeutic use of the above essential oils at a concentration of 40 mg/ml or more and plant extracts at a concentration of 150 mg/ml or more, the biological effectiveness was 12.4–48.7%, and with prophylactic use – 35.3–100%. GC–MS and GC–FID analyzes showed that the main component of oregano essential oil was carvacrol (62.32%), Chinese cinnamon – cinnamaldehyde (84.25%), clove – eugenol (76.98%). Acetic (27.85%) and caproic (28.52%) acids predominated in the compositions of the extracts of thick-leaved badan and common oak, respectively.*

**Key words:** blackleg of potato, soft-rot bacterial pathogens, plant protection, antimicrobial activity, essential oils, plant extracts, *Dickeya chrysanthemi*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium odoriferum*, *Dickeya dadantii*

## References

1. Kha V.T.N., Dzhililov F.S.U. Antibakterial'naya aktivnost' efirnykh masel i ikh ispol'zovanie dlya obezzarazhivaniya semyan kapusty ot sosudistogo bakterioza [Antibacterial activity of essential oils and their use for disinfection of cabbage seeds from vascular bacteriosis]. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii*. 2014; 6: 59–68. (In Rus.)
2. Alam A., Rehman N.U., Ansari M.N., Palla A.H. Effects of essential oils of *Elettaria cardamomum* grown in India and Guatemala on gram-negative bacteria and gastrointestinal disorders. *Molecules*. 2021; 26 (9): 2546.
3. Alkan D., Yemenicioğlu A. Potential application of natural phenolic antimicrobials and edible film technology against bacterial plant pathogens. *Food Hydrocolloids*. 2016; 55: 1–10.
4. Ambrico A., Trupo M., Magarelli R., Balducchi R., Ferraro A., Hristoforou E. Effectiveness of *Dunaliella salina* extracts against *Bacillus subtilis* and bacterial plant pathogens. *Pathogens*. 2020; 9 (8): 613.
5. Amri I., Gargouri S., Hamrouni L., Hanana M., Fezzani T., Jamoussi B. Chemical composition, phytotoxic and antifungal activities of *Pinus pinea* essential oil. *Journal of pest science*. 2012; 85 (2): 199–207.
6. Baghaee-Ravari S.B., Moslemkhani K., Khodaygan P. Assessment of genetic variability of prevalent pectinolytic bacteria causing potato tuber soft rot in eastern Iran. *Journal of Plant Pathology*. 2013: 107–113.
7. Baharum S.N., Bunawan H., Ghani M.A.A., Mustapha W.A.W., Noor N.M. Analysis of the chemical composition of the essential oil of *Polygonum minus* Huds. using two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF MS). *Molecules*. 2010; 15 (10): 7006–7015.
8. Behidj-Benyounes N., Letifi S., Slamani L., Itouchene D., Dahmane T. Study of antibacterial activity of a range of plant extracts against the causative agent of potato blackleg disease (pectobacterium). *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM*. 2017; 17: 999–1006.
9. Bhardwaj S.K., Laura J.S. Potential use of some plant-extracts against *Fusarium moniliforme*. *ORYZA-An International Journal on Rice*. 2008; 45 (1): 48–52.
10. Bhat K.A., Viswanath H.S., Bhat N.A., Wani T.A. Bioactivity of various ethanolic plant extracts against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing soft rot of potato tubers. *Indian Phytopathology*. 2017; 70 (4): 463–470.
11. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*; Approved Standard, 10th ed.; CLSI document M07-A10; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2015.
12. Dhaliwal H.J.S., Thind T.S., Chander M. Relative activity of essential oils from plants against *Penicillium digitatum* causing post-harvest fruit rot of Kinnow mandarin. *Plant Dis. Res.* 2004; 19: 140–143.
13. El Gendy A.N., Leonardi M., Mugnaini L., Bertelloni F., Ebani V.V., Nardoni S., Manciantic F., Hendawya S. Omer E., Pistelli L. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of wild and cultivated *Origanum syriacum* plants grown in Sinai, Egypt. *Industrial Crops and Products*. 2015; 67: 201–207.
14. Fisher K., Phillips C.A. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *Journal of applied microbiology*. 2006; 101 (6): 1232–1240.

15. *Gebarowska E., Politowicz J., Szumny A.* Chemical composition and antimicrobial activity of *Geranium robertianum* L. essential oil. *Acta poloniae pharmaceutica*. 2017; 74 (2): 699–705.
16. *Gerayeli N., Baghaee-Ravari S., Tarighi S.* Evaluation of the antagonistic potential of *Bacillus* strains against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and their role in the induction of resistance to potato soft rot infection. *European Journal of Plant Pathology*. 2018; 150 (4): 1049–1063.
17. *Hajian-Maleki H., Baghaee-Ravari S., Moghaddam M.* Herbal essential oils exert a preservative effect against the potato soft rot disease. *Scientia Horticulturae*. 2021; 285: 110192.
18. *Harborne J.B.* Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Chapman & Hall Pub. London, UK., 1998.
19. *Huang D.F., Xu J.G., Liu J X., Zhang H., Hu Q.P.* Chemical constituents, antibacterial activity and mechanism of action of the essential oil from *Cinnamomum cassia* bark against four food-related bacteria. *Microbiology*. 2014; 83 (4): 357–365.
20. *Ikeura H., Kobayashi F.* Antimicrobial and antifungal activity of volatile extracts of 10 herb species against *Glomerella cingulata*. *International Journal of Biology*. 2015; 7 (9): 77.
21. *Inglis D., Schroeder B.K., Johnson D.A.* Bacterial Soft Rot and Lenticel Spot on Potato Tubers. Washington State University Extension, 2011.
22. *Javed B., Nadhman A.* Optimization, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles against plant bacterial pathogens phyto-synthesized by *Mentha longifolia*. *Materials Research Express*. 2020; 7 (8): 085406.
23. *Jianu C., Pop G., Gruia A., Horhat F.G.* Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania. *International journal of agriculture and biology*. 2013; 15 (4).
24. *Joshi J.R., Burdman S., Lipsky A., Yedidia I.* Effects of plant antimicrobial phenolic compounds on virulence of the genus *Pectobacterium*. *Research in microbiology*. 2015; 166 (6): 535–545.
25. *Kalleli F., Ghassen A.B.I.D., Salem I.B., Boughalleb-M'Hamdi N., M'Hamdi M.* Essential oil from fennel seeds (*Foeniculum vulgare*) reduces *Fusarium* wilt of tomato (*Solanum lycopersicon*). *Phytopathologia Mediterranea*. 2020; 59 (1): 63–76.
26. *Khosravipour S., Rezaeian-Doloei R.* Antibacterial activity of *Carum copticum* essential oil against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *Escherichia coli* in nutrient broth medium. 2015.
27. *Kotan R., Cakir A., Ozer H., Kordali S., Cakmakci R., Dadasoglu F., Kazaz C., Dikbas N., Aydin T.* Antibacterial effects of *Origanum onites* against phytopathogenic bacteria: Possible use of the extracts from protection of disease caused by some phytopathogenic bacteria. *Scientia Horticulturae*. 2014; 172: 210–220.
28. *Kraśniewska K., Gniewosz M., Synowiec A., Przybył J.L., Bączek K., Węglarz Z.* The application of pullulan coating enriched with extracts from *Bergenia crassifolia* to control the growth of food microorganisms and improve the quality of peppers and apples. *Food and bioproducts processing*. 2015; 94: 422–433.
29. *Lapwood D.H., Read P.J., Spokes J.* Methods for assessing the susceptibility of potato tubers of different cultivars to rotting by *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica* and *carotovora*. *Plant Pathology*. 1984; 33 (1): 13–20.
30. *Lemes R. , Alves C.C., Estevam E.B., Santiago M.B., Martins C.H., Santos T.C.D, Crotti A.E.M., Miranda M.L.* Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Citrus aurantifolia* leaves and fruit peel against oral pathogenic bacteria. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2018; 90: 1285–1292.

31. Nahar L., El-Seedi H.R., Khalifa S.A., Mohammadhosseini M., Sarker S.D. Ruta essential oils: Composition and bioactivities. *Molecules*. 2021; 26 (16): 4766.
32. Nissen L., Zatta A., Stefanini I., Grandi S., Sgorbati B., Biavati B., Monti A. Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). *Fitoterapia*. 2010; 81 (5): 413–419.
33. Nouri M., Baghaee-Ravari S., Emadzadeh B. Nano-emulsified savory and thyme formulation show limited efficacy to suppress *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* compared with pure oil. *Industrial Crops and Products*. 2021; 161: 113216.
34. Oliva M.D.L.M., Carezzano M.E., Giuliano M., Daghero J., Zygadlo J., Bogino P., Giordano W., Demo M. Antimicrobial activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on phytopathogenic strains isolated from soybean. *Plant Biology*. 2015; 17 (3): 758–765.
35. Radušienė J., Judžentienė A., Pečiulytė D., Janulis V. Essential oil composition and antimicrobial assay of *Acorus calamus* leaves from different wild populations. *Plant Genetic Resources*. 2007; 5 (1): 37–44.
36. Redfern J., Kinninmonth M., Burdass D., Verran J. Using soxhlet ethanol extraction to produce and test plant material (essential oils) for their antimicrobial properties. *Journal of microbiology & biology education*. 2014; 15 (1): 45–46.
37. Rastgou M., Rezaee Danesh Y., Ercisli S., Sayyed R.Z., El Enshasy H.A., Dailin D.J., Alfarraraj S., Ansari M.J. The Effect of Some Wild Grown Plant Extracts and Essential Oils on *Pectobacterium betavascularum*: The Causative Agent of Bacterial Soft Rot and Vascular Wilt of Sugar Beet. *Plants*. 2022; 11 (9): 1155.
38. Ravari S.B., Moslemkhani K., Khodaygan P. Assessment of genetic variability of prevalent pectinolytic bacteria causing potato tuber soft rot in eastern Iran. *Journal of Plant Pathology*. 2013: 107–113.
39. Salamci E., Kordali S., Kotan R., Cakir A., Kaya Y. Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2007; 35 (9): 569–581.
40. Salamon I., Kryvtsova M., Bucko D., Tarawneh A.H. Chemical characterization and antimicrobial activity of some essential oils after their industrial large-scale distillation. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*. 2021; 2021: 984–988.
41. Sameza M.L., Nguemnang Mabou L.C., Tchameni S.N., Boat Bedine M.A., Tchoumboungang F., Jazet Dongmo P.M., Boyom Fekam F. Evaluation of clove essential oil as a mycobiocide against *Rhizopus stolonifer* and *Fusarium solani*, tuber rot causing fungi in yam (*Dioscorea rotundata* Poir.). *Journal of Phytopathology*. 2016; 164 (7–8): 433–440.
42. Soltan H.R., Ahmed S.M., Emam D.A. Comparative antibacterial activity of garlic essential oil extracted by hydro-distillation and diethyl ether extraction methods on four pathogenic bacteria. *Adv Plants Agric Res*. 2016; 4 (2): 261–264.
43. Sookto T., Srithavaj T., Thaweboon S., Thaweboon B., Shrestha B. In vitro effects of *Salvia officinalis* L. essential oil on *Candida albicans*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. 2013; 3 (5): 376–380.
44. Vasilchenko A.S., Poshvina D.V., Sidorov R.Y., Iashnikov A.V., Rogozhin E.A., Vasilchenko A.V. Oak bark (*Quercus* sp. cortex) protects plants through the inhibition of quorum sensing mediated virulence of *Pectobacterium carotovorum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2022; 38 (11): 1–12.
45. Vieira V., Pereira C., Abreu R.M., Calhelha R.C., Alves M.J., Coutinho J.A., Ferreira O., Barros L., Ferreira I.C. Hydroethanolic extract of *Juglans regia* L. green husks: A source of bioactive phytochemicals. *Food and Chemical Toxicology*. 2020; 137: 111189.

46. *Xiao Nan Y., Sun Chul K.* Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oil from Korean Citrus unshiu peel. *Journal of Agricultural chemistry and Environment.* 2013; 2013.

47. *Zaouali Y., Bouzaine T., Boussaid M.* Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology.* 2010; 48 (11): 3144–3152.

**Дацик Анна Андреевна**, аспирант кафедры защиты растений ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (916) 509–37–73; e-mail: annadacyk@rgau-msha.ru

**Тараканов Рашит Ислямович**, аспирант, ассистент кафедры защиты растений ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (977) 403–54–40; e-mail: tarakanov.rashit@mail.ru

**Anna A. Datsyuk**, post-graduate student of the Department of Plant Protection, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (916) 509–37–73; E-mail: annadacyk@rgau-msha.ru)

**Rashit I. Tarakanov**, post-graduate student, Assistant Professor of the Plant Protection Department, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (977) 403–54–40; E-mail: tarakanov.rashit@mail.ru)

ХАРАКТЕРИСТИКА ОВЕЧЬЕГО МОЛОКА КАК СЫРЬЯ  
ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

К.А. КАНИНА<sup>1</sup>, Н.А. ЖИЖИН<sup>2</sup>, П.Р. АТАНАСОВ<sup>1</sup>, О.Н. ПАСТУХ<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева  
<sup>2</sup> ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»)

*Рассмотрены физико-химические показатели овечьего молока. Показано, что овечье молоко имеет высокую биологическую и пищевую ценность, обусловленную высоким содержанием белковой и жировой фракций. Характерной особенностью овечьего молока является размер жировых шариков. Средний их размер составляет 5–7 мкм и является преобладающим – 38% (до 3 мкм – 17%; 3–5 мкм – 27%; от 7 и более – 18%). Это дает возможность производства высокожирных продуктов на основе овечьего молока – таких, как масло, сливки, мороженное и т.д.*

*В овечьем молоке достаточно высоким является содержание физиологически важных жирных кислот – таких, как линолевая, линоленовая и арахидоновая. Кроме того, в нем содержится конъюгированная линолевая кислота (CLA), которая мало изучена и по данным зарубежных источников имеет потенциал для получения продуктов функциональной направленности. Из информационных источников известно, что эта кислота обладает рядом функциональных свойств: антибактериальных, иммуномодулирующих, антидиабетических, противовоспалительных и антиканцерогенных. Степень содержания конъюгированной линолевой кислоты у различных сельскохозяйственных животных изучена недостаточно, что обуславливает особую значимость в проведении исследований.*

*Высокое содержание сывороточного белка лактоферрина по сравнению с молоком других сельскохозяйственных животных, обладающего бактерицидными и иммуномодулирующими свойствами, позволяет использовать овечье молоко в качестве сырья в целях получения доступного целевого соединения для фармацевтического производства, продуктов детского питания и создания функциональных продуктов на его основе.*

*В овечьем молоке высоким является содержание углеводов (около 5,1%), которые представлены лактозой, способствующей развитию полезных микроорганизмов, используемых при выработке молочных продуктов на основе овечьего молока.*

*Минеральный состав овечьего молока представлен главным образом биодоступным кальцием, который необходим в питании человека и для поддержания костной ткани.*

**Ключевые слова:** овечье молоко, физико-химический состав, конъюгированная молочная кислота, лактоферрин, жировые шарики, жирнокислотный состав.

## Введение

Актуальность исследований обусловлена одной из приоритетных задач Российской Федерации по выпуску качественных молочных продуктов и импортозамещению с целью обеспечения продовольственной безопасности. В этой связи исследования молока различных видов сельскохозяйственных животных, в том числе

овечьего молока, являются необходимым этапом для дальнейшей разработки технологической документации по выработке молочных продуктов на их основе.

Целью работы стало исследование физико-химических показателей сырого овечьего молока, полученного от романовской породы овец. Данные по результатам исследований позволят внести существенный вклад по созданию нормативной документации на продукты, произведенные на основе овечьего молока.

Основными производителями овечьего молока в Европе являются Греция (23,2%), Румыния (21,6%), Испания (18,3%), Италия (13,5%), Франция (9,1%). Интерес к молочному овцеводству возрастает и в России, о чем свидетельствует увеличение производства овечьего молока в период с 2005 по 2016 гг. в 6,9 раза: с 0,81 до 6,5 тыс. т [1].

Овечье молоко является источником молочного белка, который способствует получению высокобелковых продуктов на его основе – в основном сыров [2]. 46 видов сыров из овечьего молока защищены статусом географического расположения на местности: греческие сыры Фетта, Сфела, Галатури, Катики Домоку, Копанисти; итальянские сыры Пекорино Романо, Фиоре Сардо, Канестрато Пульезе; португальские сыры Серра да Эштрела, Каstellо Бранко, Терричо; испанские сыры Манчего, Идиасабаль и др. [3].

Ввиду сезонности получения овечьего молока его количество варьирует. В основном получение сырья в больших объемах производится весной, однако с июля по ноябрь его объемы снижаются [4]. Чтобы нивелировать нехватку сырья, многие производители его замораживают, сгущают, сушат, а также вырабатывают сыры из смесей овечьего молока с добавлением молока различных видов сельскохозяйственных животных [5]. Такие смеси используют для повышения сыропригодности молока (в основном овечье молоко добавляют к козьему), а также для формирования сенсорных характеристик сырья путем изменения составных частей молока, в основном жира и белка [6].

Овечье молоко, по данным А.В. Оноприйко и др., имеет высокую степень обсемененности микроорганизмами, что обусловлено наличием шерсти и близким расположением экстерьера животных к земле [7]. При этом многие авторы, в том числе зарубежные, отмечают, что производство сыров из непастеризованного овечьего молока способствует развитию автохтонной (типичной для этого вида сырья) микрофлоры, в том числе диких штаммов молочнокислых бактерий, которые вызывают появление эксклюзивных вкусовых и ароматических нот в готовом сыре [8].

Практическая значимость работы заключается в существенном дополнении данных других авторов по исследованию физико-химических показателей овечьего молока для создания нормативной документации на вид этой продукции.

### **Материал и методика исследований**

Исследования были проведены на кафедре технологии хранения и переработки продуктов животноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева совместно с Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности.

В овечьем молоке определяли такие физико-химические показатели, как:

- массовая доля влаги, %, ГОСТ 3626–73 [13]
- массовая доля жира, %, ГОСТ 5867–90 [9]
- массовая доля белка, %, ГОСТ 23327–98 [10]
- массовая доля лактозы, %, ГОСТ Р 54667–2011 [14]
- плотность молока, ГОСТ 3625–84 [11]
- кислотность молока, °Т, ГОСТ 3624–92 [12]
- термоустойчивость молока, ГОСТ 25228–82 [15]

Для исследований пептидного состава образцов была подобрана хроматографическая колонка, отвечающая установленным требованиям. В этом качестве была использована колонка ReproSil-Pur 300 ODS-3.5мкм, 250 × 4,6 мм с химически привитой октодецилсалонольной фазой, способной удерживать белки за счет гидрофобных связей, размером пор 300 Å, позволяющим пептидам полноценно связываться с неподвижной фазой.

Разделение производили при помощи хроматографической системы, оборудованной двумя насосами и динамическим смесителем, которые позволяют проводить градиентное элюирование анализов в программируемом составе подвижной фазы. В качестве компонентов подвижной фазы были использованы бидистиллированная вода с добавлением в качестве ион-парного реагента трифторуксусной кислоты (ТФУ) в количестве 0,1% по объему и ацетонитрила как органического растворителя, также с добавкой ТФУ 0,1% по объему. Анализ образцов проводили при комнатной температуре со скоростью потока подвижной фазы 1 мл/мин. Объем вводимой пробы составил 20 мкл. Долю ацетонитрила в процессе проведения анализа увеличивали с 5 до 60% в течение 30 мин. Обнаружение проводили при 214 нм с использованием спектрофотометрического детектора [16].

Анализ жирнокислотного состава сырного продукта проводили с использованием газового хроматографа «Кристаллюкс 4000М», оснащенного пламенно-ионизационным детектором (ПИД), с пределами детектирования 1,1 · 10<sup>12</sup> г С/с по пропану. Анализ проводили при помощи кварцевой колонки 100 м · 0,25 мм ID, 0,2 мкм, с неподвижной фазой FFAP. Для идентификации смеси использовали стандарт метиловых эфиров жирных кислот Supelco FAMEmix 37 components. В качестве газа-носителя использовали азот при следующей температурной программе разделения: температура T<sub>1</sub> колонки – 140°C с выдержкой 5 мин, T<sub>2</sub> колонки – 240°C со скоростью 4 гр/мин; температура испарения – 230°C; объем вводимой пробы – 1 мкл.

Для управления режимами анализа, записи хроматограмм и обработки полученной информации использовалось программное обеспечение «NetChrom». Расчет состава метиловых эфиров жирных кислот производили методом внутренней нормализации [17].

*Методика определения дисперсности жировых частиц.* Метод основан на визуальной оценке микротографий, определении размеров воздушных пузырьков и математическом расчете среднего диаметра. Исследования проводили с помощью светового микроскопа марки «Olympus CX 41» (со встроенной фотокамерой), увеличение – × 100 [18].

Методика определения кальция осуществлялась с помощью электрохимической автоматизации (спектральная атомная абсорбция). Метод АА спектрометрии основан на явлении резонансного поглощения света свободными атомами (атомным паром) определяемого элемента. При резонансном поглощении атом переходит с основного на ближайший возбужденный энергетический уровень. Для каждого элемента существует аналитическая резонансная линия, обеспечивающая максимальное поглощение света. В качестве источников света в ААС применяются источники линейчатого спектра определяемого элемента, лампы с полым катодом (ЛПК).

Управление спектрометром и внешними устройствами, обработка, отображение и хранение данных АА измерений осуществляются персональным компьютером с программным обеспечением «Квант.Z».

Аликвота отобранной пробы молока подвергается минерализации в соответствии с ГОСТ 26929 «Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов».

Исследования проводились в 3 повторностях. Фоновым раствором является бидистиллированная вода. Навеска образца составляла 2 г. Аликвота анализируемого образца, вводимого в прибор, – 5 мкл. Зависимость аналитического сигнала от концентрации элемента устанавливалась с помощью градуированных растворов.

Все показатели состава и свойств молока определяли в соответствии с существующими стандартными методами и использованием приборной базы кафедры технологии хранения и переработки продуктов животноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева совместно с Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности.

### Результаты и их обсуждение

*Жировая фаза.* Овечье молоко, благодаря высокой массовой доли жира и белка, имеет высокую биологическую и пищевую ценность (табл. 1).

Таблица 1

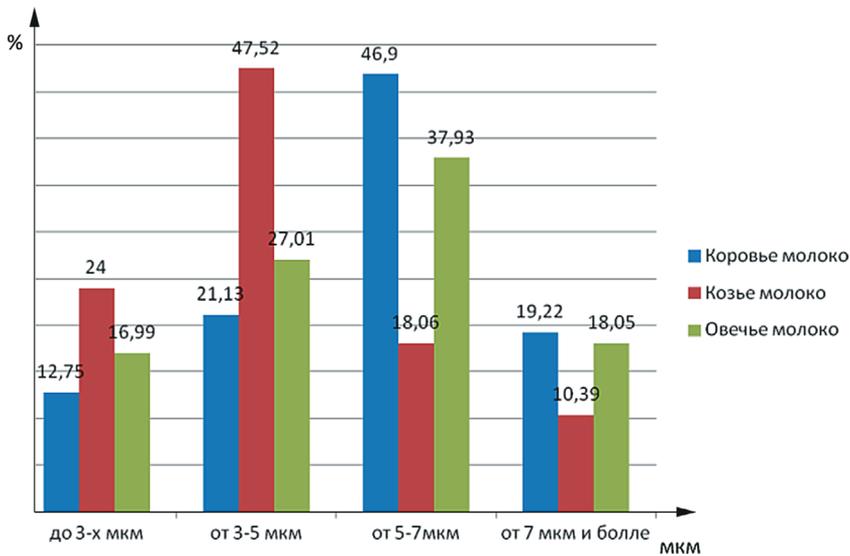
#### Физико-химические показатели овечьего молока

Физико-химический показатель	Молоко-сырье
Массовая доля, %, – влаги	84,32±0,015
– сухого вещества	17,88±0,014
– жира	6,10±0,05
– белка	3,84±0,12
– общего азота	0,855±0,03
– НБА	0,0362±0,006
– СБ	1,092±0,03
– лактозы	4,94±0,01
Титруемая кислотность, °Т	24,04±0,012
Плотность, кг/м <sup>3</sup>	1,0274±0,17
Дисперсность жировых шариков, мкм	5,77±0,25
Алкогольная проба, объемная доля этилового спирта, %	Не выдерживает 68%-ный р-р спиртовой пробы

Массовая доля жира в овечьем молоке в среднем составила около 6,1% (табл. 1). Размер жировых шариков составляет около 5–7 нм в соотношении 38% от общего содержания жировых частиц (рис. 1).

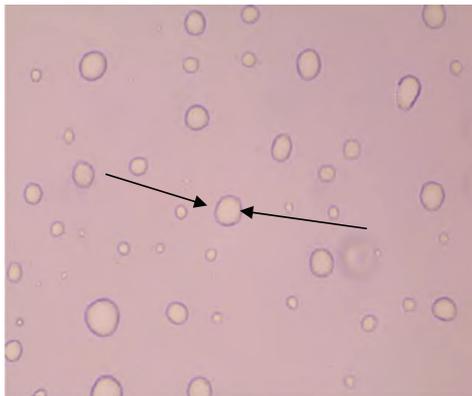
Жир овечьего молока имеет желтоватый оттенок ввиду наличия в нем провитамина А, β-каротина, обладает специфическим резким запахом, связанным с летучими жирными кислотами, которые присутствуют в его составе (рис. 2).

В молочном жире содержатся активные формы веществ, которые необходимы человеку с поступлением с пищей: холестерин, жирорастворимые витамины, незаменимые жирные кислоты и др. [19]. Незаменимые ЖК омега-6 и омега-3, которые содержатся в овечьем молоке, высвобождают холестерин низкой плотности, тем самым предотвращая риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний.



**Рис. 1.** Дисперсность молочного жира овечьего молока

Молочный жир овечьего молока, как известно, содержит более 500 различных жирных кислот [20]. Некоторые жирные кислоты представлены в следовых количествах, при этом они придают уникальный вкус молоку и молочным продуктам, выработанным на его основе (табл. 2).



**Рис. 2.** Жировые частицы овечьего молока



**Рис. 3.** Внешний вид овечьего молока

В овечьем молоке содержится большое количество сопряженной линолевой кислоты (CLA) и линолевой кислоты. Последняя относится к эссенциальным жирным кислотам, которая должна поступать с пищей в организм человека.

Линолевая кислота в процессе биосинтеза является субстратом для микроорганизмов, которые в свою очередь производят конъюгированную линолевую кислоту. Кроме того, линолевая кислота является важным компонентом липидов кожи человека. А CLA относится к антиканцерогенным компонентам молочного жира. Степень содержания конъюгированной линолевой кислоты у различных сельскохозяйственных животных изучена недостаточно, что обуславливает особую значимость исследований.

Арахидоновая кислота в процессе биосинтеза служит материалом для медиаторов, которые участвуют во многих физиологических процессах в клетках организма человека. В процессе биосинтеза из арахидоновой кислоты образуется линолевая кислота.

От соотношения насыщенных и ненасыщенных жирных кислот зависит консистенция продукта, так как степень

плавления жира является различной [21]. В овечьем молоке преобладают насыщенные кислоты, которые придают плотную структуру продукту.

Состав белков. Содержание белка (3,84%) в овечьем молоке высокое, поэтому на его основе можно вырабатывать высокобелковые продукты, а также составлять смеси с менее сыропригодным молоком для повышения содержания как казеина, так и нативного кальция.

Таблица 2

**Жирынокислотный состав овечьего молока**

Жирные кислоты, % от общего содержания	Молоко-сырье
Сумма насыщенных ЖК, в том числе:	61,423±2,22
– линолевая	4,05±0,44
– линоленовая	0,65±0,21
– арахидоновая	0,24±0,01
Сумма ненасыщенных ЖК	31,74±2,57
Сумма мононенасыщенных ЖК	27,97±2,61
Сумма полиненасыщенных ЖК, в том числе:	4,29±0,27
– омега-3	0,771±0,0072
– омега-6	4,45±0,26
– CLA	0,0636±0,01

Термоустойчивость молока в основном зависит от содержания термостабильных белков (в основном от казеина на 80% и от сывороточных белков на 20%) молока и солевого состава. Одной из особенностей овечьего молока, которую следует учитывать в технологическом процессе, является то, что при проведении алкогольной пробы белок овечьего молока казеин денатурирует (сворачивается), что, как правило, говорит о непригодности сырья. При этом тепловую пробу (130°C) молоко выдерживает, из чего можно сделать вывод о том, что применение алкогольной пробы для оценки термоустойчивости овечьего молока не является достоверным.

Состав сывороточных белков овечьего молока представлен основными компонентами – такими, как бычий сывороточный альбумин (БСА), лактоальбумин, β-лактоглобулин и лактоферрин (рис. 4).

Количественные показатели сывороточных белков молока овец романовской породы приведены в таблице 3.

Бычий сывороточный альбумин (БСА) является основным белком сыворотки крови (табл. 3). Это главный аллерген, характерный для мяса (говядины) и являющийся минорным компонентом молока. В овечьем молоке его содержание около составляет 0,3% от общего содержания сывороточных белков. БСА обладает меньшей иммунореактивностью, чем белок β-лактоглобулин. БСА – характерный для сельскохозяйственных животных белок, и в грудном молоке он практически отсутствует.

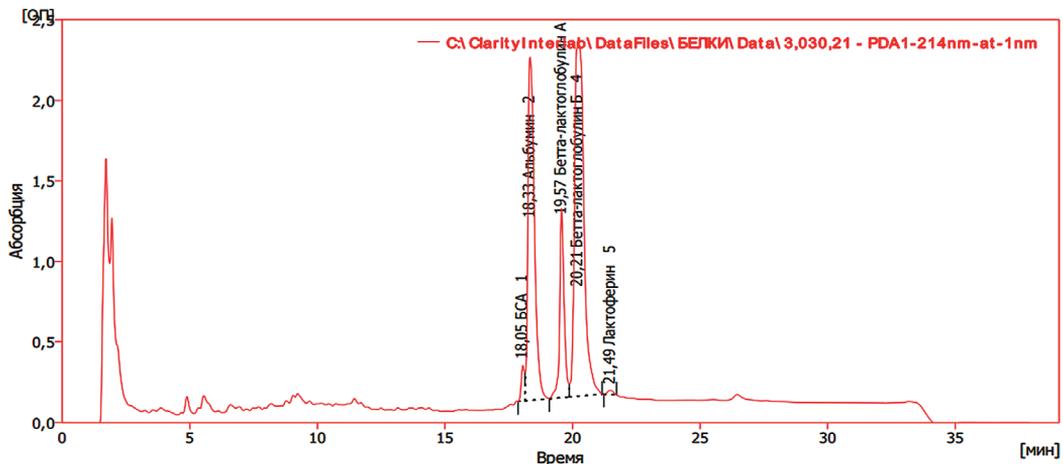


Рис. 4. Хроматограмма сывороточных белков овечьего молока

Таблица 3

### Составные части сывороточных белков овечьего молока

Сывороточные белки, %	Молоко-сырье
БСА	0,348
Альбумин	2,162
$\beta$ -лактоглобулин А	2,044
$\beta$ -лактоглобулин Б	8,441
Лактоферрин	0,158

$\beta$ -лактоглобулин является белком, на который часто возникают аллергические реакции. Кроме того,  $\beta$ -лактоглобулин не осаждается сычужным ферментом. Биологическая функция заключается в переносе водорастворимых витаминов и железа [23]. В овечьем молоке данного вида белка содержится около 8%, и он превалирует по сравнению с другими сывороточными белками.

Лактоферрин (ЛФ) является белком трансферина, который переносит железо в клетки и контролирует уровень его содержания в крови. Из информационных источников известно, что ЛФ является усвояемым белком почти на 67% и уступает только  $\beta$ -лактоглобулину, у которого усвояемость в организме человека составляет 84%. Кроме того, разработаны линейки по обогащению ЛФ кисломолочных продуктов ввиду аминокислотного состава белка, который является субстратом для развития бифидобактерий [24]. В овечьем молоке его содержание составляет около 0,16 г на 100 г продукта. Высокое содержание может также оказывать влияние на бактерицидную фазу молока и дальнейшую его сохранность.

*Углеводный состав.* Лактоза, содержащаяся в овечьем молоке в количестве около 5%, является питательной средой для развития микроорганизмов. Образованный лактат в процессе гликолиза при выработке сыров способствует всасыванию кальция в организме человека [22]. Кроме того, лактоза является субстратом для развития в кишечнике человека полезной микрофлоры, в том числе лактобактерий [23].

*Минеральный состав.* В овечьем молоке высоким является содержание солей цитратов, необходимых для развития молочнокислых микроорганизмов, и это положительный фактор для производства молочных продуктов. Показатели минерального состава овечьего молока приведены в таблице 4.

Таблица 4

#### Минеральный состав овечьего молока

Показатель	Молоко-сырье
Кальций, мг/100 г	203,70±0,80
Фосфаты, г/дм <sup>3</sup>	2,32±0,55
Хлориды, г/дм <sup>3</sup>	1,59±0,33
Сульфаты, г/дм <sup>3</sup>	1,85±0,22
Цитраты, г/дм <sup>3</sup>	3,44±0,30

С технологической точки зрения значимым является также содержание в овечьем молоке нативного кальция. В среднем его содержание составило около 203,70 мг на 100 г, что позволяет проводить выработку сыров с сычужным свертыванием без дополнительного внесения кальция.

#### Выводы

Посредством анализа физико-химических показателей овечьего молока были установлены показатели, которые следует учитывать в технологическом процессе переработки овечьего молока. Показано, что биологическая ценность овечьего молока за счет содержания отдельных компонентов, как жировой, так и белковой фазы, выше, чем у молока коровьего.

Содержание эссенциальных жирных кислот, в том числе конъюгированной линолевой кислоты, позволяет рассматривать овечье молоко в качестве потенциального продукта функциональной направленности.

Выявлено, что высокое содержание нативного кальция позволяет проводить выработку сыров без дополнительной фазы внесения кальция. Это способствует возможности использования овечьего молока в качестве добавки для повышения сыропригодности молока других сельскохозяйственных животных.

В белковом составе важно отметить, что при изучении молока на термоустойчивость («алкогольная проба»), которая применяется для коровьего молока нецелесообразно использовать при оценке овечьего молока. Из-за разного солевого и белкового состава, казеин денатурирует при 68% добавлении спирта. Однако тепловую пробу овечье молоко при нагревании до 130°C выдерживает, что обуславливает его термоустойчивость. Это важно с точки зрения производства стерилизованных продуктов, применяемых для выпуска детского питания.

Изучение состава белков и углеводов содержащихся в молоке овец важны с точки зрения качества, вырабатываемых на его основе продуктов, с учетом аллергии и непереносимости данных компонентов.

## Библиографический список

1. Сыр. Научные основы и технологии: М. / П.Л. МакСуини П.Ф. Фокс, П.П. Коттер, Д.У. Эверетт: пер. с англ. – СПб.: ИД Профессия, 2019. – 556 с.
2. *Канина К.А., Жижин Н.А.* Изучение качества козьего молока и овечьего молока как сырья для производства молочных продуктов // Здоровьесберегающие технологии, качество и безопасность пищевой продукции: Сборник статей по материалам Всероссийской конференции с международным участием. – Краснодар, 2021. – С. 238–241.
3. *Юрова Е.А., Семенова Е.С., Мельденберг Д.Н. и др.* Сравнительная оценка молока-сырья жвачных сельскохозяйственных животных // Молочная промышленность. – 2017. – № 8. – С. 60–63.
4. *Канина К.А., Жижин Н.А.* Физико-химические показатели и жирнокислотный состав молока-сырья при воздействии акустической кавитации // Доклады ТСХА. – 2019. – С. 545–547.
5. *Шувариков А.С., Канина К.А. и др.* Состав и свойства овечьего, козьего и коровьего молока // Фермер. Поволжье. – 2019. – № 7 (84). – С. 92–93.
6. *Шлемен М., Ефимова Е., Савельева Т.* Овечьё молочное сырьё для промышленного использования // Наука и инновации. – 2019. – № 10 (200). – С. 22–25.
7. *Слипченко С.Н., Оноприйко А.В., Оноприйко В.А., Емельянов С.А.* Обеспечение микробиологической безопасности молока // Молочная промышленность. – 2007. – № 3. – С. 36–37.
8. ГОСТ 5867–90. Молоко и молочные продукты. Методы определения массовой доли жира: Издание официальное. – Введ. 91–07–01. – Москва: ИПК Издательство стандартов: Стандартинформ, 2009. – 12 с.
9. *Оспанов А.Б., Щетинина Е.М. и др.* Перспективное направление развития молочной промышленности Казахстана: получение и переработка молока мелкого рогатого скота // Ползуновский вестник. – 2021. – № 4. – С. 41–46.
10. ГОСТ Р 55246–2012. Молоко и молочные продукты. Определение содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля. – Введ. 85–07–02. – Москва: Стандартинформ, 2009. – 13 с.
11. ГОСТ 3625–84. Молоко и молочные продукты. Методы определения плотности: Издание официальное. – Введ. 85–07–02. – Москва: Стандартинформ, 2009. – 13 с.
12. ГОСТ 3624–92. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности: Издание официальное. – Москва: ИПК Издательство стандартов: Стандартинформ, 2009. – 2 с.
13. ГОСТ 3626–73. Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества: Издание официальное. – Введ. 74–07–01. – Москва: Стандартинформ, 2009. – 11 с.
14. ГОСТ 32915–2014. Молоко и молочная продукция. Определение жирнокислотного состава жировой фазы методом газовой хроматографии: Издание официальное. – Москва: ИПК Издательство стандартов: Стандартинформ, 2009. – 2 с.
15. ГОСТ 25228–82. Молоко и сливки. Метод определения термоустойчивости по алкогольной пробе: Издание официальное. – Москва: ИПК Издательство стандартов: Стандартинформ, 2009. – 2 с.
16. *Кольман Я., Рём К.Г.* Наглядная биохимия: М.; пер. с англ. Т.П. Мословской. – 6-е изд. – М.: Лаборатория знаний, 2020. – 509 с.
17. *Тёпел А.* Химия и физика молока: М.; пер. с нем. / под ред. С.А. Фильчаковой. – СПб.: «Профессия», 2012. – 832 с.
18. *Этлеш С.* Методы анализа пищевых продуктов. Определение компонентов и пищевых добавок: М.; пер. с англ. – СПб.: Профессия, 2016. – 564 с.

19. Foglietta F., Serpe L., Canaparo R., Vivenza N., Riccio G., Imbalzano E., Gasco P., Zara G.P. Modulation of butyrate anticancer activity by solid lipid nanoparticle delivery: an in vitro investigation on human breast cancer and leukemia cell lines // *J Pharm Pharm Sci.* – 2014. – 17:231–47.

20. Park Y.W., Juarez M., Ramos M., Haenlein G.F.W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk // *Small Ruminants Res.* – 2007. – 68:88–113.

21. Pavic V., Antunac N., Mioč B., Ivanković A. Influence of stage of lactation on the chemical composition and physical properties of sheep milk // *Czech Anim Sci.* – 2002. – 47:80–4.

22. Pisanu S., Pagnozzi D., Pes M., Pirisi A., Roggio T., Uzzau S., Addis M.F. Differences in the peptide profile of raw and pasteurized ovine milk cheese and implications for its bioactive potential // *Int Dairy J.* – 2015. – 42:26–33.

23. Raynal-Ljutovac K., Lagriffoul G., Paccard P., Guillet I., Chilliard Y. Composition of goat and sheep milk products: an update // *Small Rum Res.* – 2008. – 79:57–72.

24. Saad N., Delattre C., Urdaci M., Schmitter J.M., Bressollier P. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field // *LWT – Food Sci Technol.* – 2013. – 50:1–16

25. Sanders ME. How do we know when something called «probiotic» is really a probiotic? A guideline for consumers and health care professionals // *Funct Food Rev.* – 2009. – 1:3–12.

## CHARACTERISTICS OF SHEEP'S MILK AS RAW MATERIAL FOR THE PRODUCTION OF DAIRY PRODUCTS

K.A. KANINA<sup>1</sup>, N.A. ZHIZHIN<sup>2</sup>, P.R. ATANASOV<sup>1</sup>, O.N. PASTUKH<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, <sup>2</sup>All Russian Scientific Research Institute of the Dairy Industry)

*The article considers the physico-chemical parameters of sheep's milk. It is shown that sheep's milk has a high biological and nutritional value due to the high content of protein and fat fractions. A characteristic feature of sheep's milk is the size of fat balls. The average size is 5–7 microns and is dominant (38%), up to 3 microns – 17%, 3–5 microns – 27%, from 7 and more – 18%. It gives an opportunity to produce high-fat products based on sheep's milk, such as butter, cream, ice cream, etc.*

*Sheep's milk has a fairly high content of physiologically important fatty acids such as linoleic acid, linolenic acid and arachidonic acid. It also contains conjugated linoleic acid (CLA), from information sources, this fatty acid has a number of functional properties: antibacterial, immunomodulatory, anti-diabetic, anti-inflammatory and anti-carcinogenic.*

*The high serum protein content of lactoferrin (compared to other farm animals), which has bactericidal and immunomodulatory properties, allows the use of sheep's milk as a raw material for obtaining an affordable target compound for pharmaceutical production and the creation of functional products based on it.*

*Sheep's milk has a high carbohydrate content of about 5.1%, represented by lactose, which promotes the development of beneficial micro-organisms used in the production of dairy products based on sheep's milk.*

*The mineral composition of sheep's milk consists mainly of bioavailable calcium, which is necessary in human nutrition and for the maintenance of bone tissue.*

**Key words:** *sheep's milk, physico-chemical composition, conjugated lactic acid, lactoferrin, fat balls, fatty acid composition.*

## References

1. *MakSuini P.L., Foks P.F., Kotter P.P., Everett D.U.* Syr [Cheese]. Translated from English. Nauchnye osnovy i tekhnologii. SPb.: ID Professiya, 2019: 556. (In Rus.)
2. *Kanina K.A.* Izuchenie kachestva koz'ego moloka i ovech'ego kak syr'ya dlya proizvodstva molochnykh produktov [Study of the quality of goat's milk and sheep's milk as a raw material for the production of dairy products]. V sbornike: Zdorov'esberegayushchie tekhnologii, kachestvo i bezopasnost' pishchevoy produktsii. Sbornik statey po materialam Vserossiyskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem. Krasnodar, 2021: 238–241. (In Rus.)
3. *Yurova E.A., Semenova E.S., Mel'denberg D.N. et al.* Sravnitel'naya otsenka moloka-syr'ya zhvachnykh sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh [Comparative evaluation of raw milk of ruminant farm animals]. Molochnaya promyshlennost'. 2017; 8: 60–63. (In Rus.)
4. *Kanina K.A., Zhizhin N.A.* Fiziko-khimicheskie pokazateli i zhirnokislотноy sostav moloka-syr'ya pri vozdeystvii akusticheskoy kavitatsii [Physical and chemical indicators and fatty acid composition of raw milk under the influence of acoustic cavitation]. V sbornike: DOKLADY TSKhA. 2019: 545–547. (In Rus.)
5. *Shuvarikov A.S., Kanina K.A. et al.* Sostav i svoystva ovech'ego, koz'ego i korov'ego moloka [Composition and properties of sheep, goat and cow milk]. Fermer. Povolzh'e. 2019; 7 (84): 92–93. (In Rus.)
6. *Shlemen M., Efimova E., Savel'eva T.* Ovech'e molochnoe syr'e dlya promyshlennogo ispol'zovaniya [Sheep milk raw materials for industrial use]. Nauka i innovatsii. 2019; 10 (200): 22–25. (In Rus.)
7. *Slipchenko S.N., Onopriyko A.V., Onopriyko V.A., Emel'yanov S.A.* Obespechenie mikrobiologicheskoy bezopasnosti moloka [Ensuring the microbiological safety of milk]. Molochnaya promyshlennost'. 2007; 3: 36–37. (In Rus.)
8. GOST 5867–90 Moloko i molochnye produkty. Metody opredeleniya massovoy doli zhira: Izdanie ofitsial'noe [Methods for determining the mass fraction of fat: Official edition]. Moscow: IPK Izdatel'stvo standartov: Standartinform, 2009: 12. (In Rus.)
9. *Ospanov A.B., Shchetinina E.M. et al.* Perspektivnoe napravlenye razvitiya molochnoy promyshlennosti Kazakhstana: poluchenie i pererabotka moloka melkogo rogatogo skota [Prospect trend of development of the dairy industry in Kazakhstan: obtaining and processing milk from small cattle]. Polzunovskiy vestnik. 2021; 4: 41–46. (In Rus.)
10. GOST R55246–2012 Moloko i molochnye produkty. Opredelenie sodержaniya nebelkovogo azota s primeneniem metoda K'el'dalya [Milk and dairy products. Determination of the content of non-protein nitrogen using the Kjeldahl method]. Moscow: IPK Izdatel'stvo standartov: Standartinform, 2009: 13. (In Rus.)
11. GOST 3625–84 Moloko i molochnye produkty. Metody opredeleniya plotnosti: Izdanie ofitsial'noe [Milk and dairy products. Methods for determining density: Official edition]. Moscow: IPK Izdatel'stvo standartov: Standartinform, 2009: 13. (In Rus.)
12. GOST 3625–84 Moloko i molochnye produkty. Titrimetricheskie metody opredeleniya kislотности: Izdanie ofitsial'noe [Milk and dairy products. Density determination methods: Official edition]. Moscow: IPK Izdatel'stvo standartov: Standartinform, 2009: 2. (In Rus.)
13. GOST 3626–73. Moloko i molochnye produkty. Metody opredeleniya vlagi i sukhogo veshchestva: Izdanie ofitsial'noe [Milk and dairy products. Methods for determining moisture and dry matter: Official edition]. Moscow: IPK Izdatel'stvo standartov: Standartinform, 2009: 11. (In Rus.)
14. GOST 32915–2014 Moloko i molochnaya produktsiya. Opredelenie zhirnokislотноgo sostava zhirovoy fazy metodom gazovoy khromatografii: Izdanie ofitsial'noe [Milk

and dairy products. Determination of the fatty acid composition of the fatty phase by gas chromatography: Official edition]. Moscow: IPK Izdatel'stvo standartov: Standartinform, 2009: 2. (In Rus.)

15. GOST 25228–82 Moloko i slivki. Metod opredeleniya termoustoychivosti po alkohol'noy probe: Izdanie ofitsial'noe [Milk and cream. Method for determining thermal stability by alcohol test: Official edition]. Moscow: IPK Izdatel'stvo standartov: Standartinform, 2009: 2. (In Rus.)

16. *Kolman Ya., Rem K.G.* Naglyadnaya biokhimiya [Visual biochemistry]. Translated from English by T.P. Moslovskaya. 6<sup>th</sup> ed. M.: Laboratoriya znaniy, 2020: 509. (In Rus.)

17. *Tepel A.* Khimiya i fizika moloka [Chemistry and physics of milk]. Translated from German. Ed. by S.A. Filchakova. St. Petersburg: Professiya, 2012: 832. (In Rus.)

18. *Etleš S.* Metody analiza pishchevykh produktov. Opredelenie komponentov i pishchevykh dobavok [Methods of analysis of food products. Definition of components and food additives]. Translated from English. St. Petersburg: Professiya, 2016: 564. (In Rus.)

19. *Foglietta F., Serpe L., Canaparo R., Vivenza N., Riccio G., Imbalzano E., Gasco P., Zara G.P.* Modulation of butyrate anticancer activity by solid lipid nanoparticle delivery: an in vitro investigation on human breast cancer and leukemia cell lines. *J Pharm Pharm Sci.* 2014; 17: 231–47.

20. *Park Y.W., Juarez M., Ramos M., Haenlein G.F.W.* Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminants Res.* 2007.; 68: 88–113.

21. *Pavić V., Antunac N., Mioč B., Ivanković A.* Influence of stage of lactation on the chemical composition and physical properties of sheep milk. *Czech Anim Sci.* 2002; 47: 80–4.

22. *Pisanu S., Pagnozzi D., Pes M., Pirisi A., Roggio T., Uzzau S., Addis M.F.* Differences in the peptide profile of raw and pasteurized ovine milk cheese and implications for its bioactive potential. *Int Dairy J.* 2015; 42: 26–33.

23. *Raynal-Ljutovac K., Lagriffoul G., Paccard P., Guillet I., Chilliard Y.* Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Rum Res.* 2008; 79: 57–72.

24. *Saad N., Delattre C., Urdaci M., Schmitter J.M., Bressollier P.* An overview of the last advances in the probiotic and prebiotic field. *LWT – Food Sci Technol.* 2013; 50: 1–16.

25. *Sanders M.E.* How do we know when something called “probiotic” is really a probiotic? A guideline for consumers and health care professionals. *Funct Food Rev.* 2009; 1: 3–12.

**Канина Ксения Александровна**, старший преподаватель кафедры технологии хранения и переработки продуктов животноводства, канд. техн. наук, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 48; e-mail: kseniya.kanina.91@mail.ru; тел.: (499) 976–46–12

**Жижин Николай Анатольевич**, научный сотрудник лаборатории теххимического контроля, канд. техн. наук, ФГАНУ Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности; 115093, Российская Федерация, г. Москва, ул. Люсиновская, 35; e-mail: zhizhinmoloko@mail.ru; тел.: (499) 976–46–12

**Атанасов Петр Руменов**, студент, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 48; e-mail: tppj@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976–46–12

**Пастух Ольга Николаевна**, доцент кафедры технологии хранения и переработки продуктов животноводства, канд. с.-х. наук, доцент, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 48; e-mail: tppj@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976-46-12

**Kseniya A. Kanina**, PhD (Eng), senior lecturer of the department Technology of Storage and Processing of Animal Products, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976-46-12; E-mail: kseniya.kanina.91@mail.ru)

**Nikolay A. Zhizhin**, PhD (Eng), Research Associate of the Laboratory of Technochemical Control, All-Russian Research Institute of Dairy Industry (35 Lyusinovskaya Str., Moscow, 115093, Russian Federation; phone: (499) 976-46-12; E-mail: zhizhinmoloko@mail.ru)

**Petr R. Atanasov**, student, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976-46-12; E-mail: tppj@rgau-msha.ru)

**Ol'ga N. Pastukh**, PhD (Ag), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Technology of Storage and Processing of Animal Products, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976-46-12; E-mail: tppj@rgau-msha.ru)

УЧЕННЫЕ И ПЕДАГОГИ ТИМИРЯЗЕВКИ.  
НАУМОВ ВЛАДИМИР ДМИТРИЕВИЧ

С.Л. БЕЛОПУХОВ, В.И. САВИЧ

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева)

*Статья посвящена одному из ведущих ученых Тимирязевской академии в области почвоведения профессору Наумову Владимиру Дмитриевичу. Представлены этапы становления ученого в области почвоведения и выдающегося педагога. Показан вклад исследователя-практика в изучение факторов почвообразования для различных регионов нашей страны и зарубежных стран, классификацию почв, обобщение собственных результатов по физико-химии почв и данных литературы, использование их для составления многочисленных учебников и учебных пособий, монографий для студентов аграрных вузов страны.*

**Ключевые слова:** *ученый, почвоведение, почвы, классификация почв, география почв, агропочвоведение*

75 лет со дня рождения исполнилось выдающемуся ученому, педагогу Тимирязевской академии Наумову Владимиру Дмитриевичу.

В.Д. Наумов родился 29 сентября 1947 г. в Тимирязевском районе Москвы, и близость к Тимирязевке определила всю его дальнейшую судьбу. После окончания школы в 1966 г. он поступил на факультет агрохимии и почвоведения Московской сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева.

Выбор будущей специальности почвоведом был случайным. Почвоведение в те годы было одним из важнейших направлений научных и прикладных исследований. Большое разнообразие почв с их различным химическим составом, физико-химическими и физико-механическими характеристиками определяло урожайность сельскохозяйственных культур, качество получаемой продукции.

Исследования разных по составу почв, органического вещества, окислительно-восстановительного состояния, почвенно-поглощающего комплекса проводились в те годы на кафедре почвоведения, которую возглавлял профессор И.С. Кауричев. В эти работы активно включился молодой исследователь Владимир Наумов.

После успешного окончания факультета в 1971 г. В.Д. Наумов остался стажером-исследователем на кафедре почвоведения. Уже во время учебы в академии началась и трудовая деятельность будущего почвоведом и географа в качестве техника, инженера-почвоведом в различных почвенно-геоботанических экспедициях. Знакомство с почвами регионов нашей необъятной страны привнесло большой практический опыт и экспериментальный материал для дальнейших исследований. Как следует из воспоминаний студенческих лет, наибольшее впечатление на молодого ученого оказало участие в картографировании почв Тувы. Кафедра почвоведения стала фактически родным домом, где долгими вечерами проводилось изучение химического состава, физико-химических и физико-механических показателей

огромного количества почвенных образцов, привезенных со всех уголков страны из экспедиций.

С 1972 г. В.Д. Наумов проходил обучение в аспирантуре на кафедре почвоведения, работая над кандидатской диссертацией по изучению влияния почв на рост и развитие плодовых культур, которую успешно защитил в 1975 г. [1]. Практическая ценность этой работы нашла свое продолжение при подготовке и защите в 1994 г. докторской диссертации [2].

Таким образом, фактически с 1966 г. по настоящее время, то есть более 55 лет, Владимир Дмитриевич Наумов трудится в Тимирязевке. Как преподаватель Тимирязевской академии, он работал практически на всех должностях: ассистент, доцент, профессор, заведующий кафедрой, декан факультета почвоведения, агрохимии и экологии, проректор по учебной работе университета. Под руководством В.Д. Наумова подготовлено 6 кандидатов наук, более 200 дипломированных специалистов для нашей страны и многих зарубежных стран. Результаты научных исследований ученого и педагога отражены более чем в 300 статьях, 20 учебниках и учебных пособиях для студентов различных направлений и специальностей.

Большой интерес у студентов и аспирантов на протяжении более 30 лет вызывает разработанный оригинальный авторский курс лекций «География и сельскохозяйственное использование почв». Новым и практически значимым направлением для кафедры почвоведения стал авторский учебно-методический комплекс по географии почв [3–13]. Материалы курса постоянно обновляются, и в связи с открытием в университете технологического колледжа был издан учебник для среднего специального образования [14].

В педагогической работе В.Д. Наумов особое внимание уделяет обеспечению единства обучения и воспитания, формированию интеллектуального, культурного и нравственного развития личности, важное значение придает практической подготовке студентов, бакалавров и магистров для агропромышленного комплекса нашей страны. Владимир Дмитриевич является руководителем направления 35.03.03 «Агрохимия и агропочвоведение» по бакалавриату, где курирует профили по почвоведению и агроэкологической оценке земель, питанию растений и качеству урожая, и направления 35.04.03 по магистратуре «Агроэкологическая оценка земель и проектирование агроландшафтов».

Высокий уровень знания иностранных языков, понимание важности подготовки кадров для дружественных стран позволили В.Д. Наумову неоднократно выезжать для научной и педагогической работы за рубеж. Так, в 1979–1980 гг. молодой ученый и преподаватель участвовал в работе почвенно-геоботанической экспедиции в Социалистической Народной Ливийской Арабской Джамахирии. Результаты исследований были изложены в 2-томной монографии на английском языке [15].

В период с 1980 по 1982 гг. В.Д. Наумов служил преподавателем в университете им. Гамаль Абдель Насера в г. Конакри (Гвинея) и преподавал студентам университета на французском языке классический курс «Почвоведение», вместе с ними изучал уникальные красные и красно-желтые ферралитные почвы этой страны.

Накопленный опыт педагогической и научной работы в зарубежных странах стал основой создания и чтения нового курса «Почвы тропиков и субтропиков и их сельскохозяйственное использование», который В.Д. Наумов стал читать студентам Тимирязевской академии. В рамках учебно-методического курса издан ряд учебников и учебных пособий, написанный им [16–18].

Научные исследования в течение всех лет работы В.Д. Наумова в Тимирязевке были неотъемлемой частью его деятельности как научно-педагогического работника. Особое удовлетворение приносили результаты, которые были внедрены

в сельскохозяйственных предприятиях страны. Так, при непосредственном участии В.Д. Наумова были проведены широкомасштабные обследования и оценка промышленных садов в Волгоградской, Ростовской, Запорожской, Николаевской областях, в Крыму и Молдавии, где основной проблемой тех лет была «розеточность яблони», что приводило к резкому снижению урожая и качества яблок. По итогам работы комиссии подготовлены практические рекомендации по борьбе с этим неинфекционным заболеванием, дана оценка влияния макро- и микроэлементов (таких, как цинк и кальций) на развитие этого заболевания, издана монография [19].

Под научным руководством Владимира Дмитриевича Наумова активно продолжаются комплексные почвенно-экологические и лесоводственные исследования на одной из самых старых и известных во всем мире Лесной опытной даче РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Постоянный мониторинг проводится на специально выделенных еще с середины XIX в. пробных площадках Лесной опытной дачи, где изучаются вопросы влияния почвенно-экологических условий мегаполиса на рост и развитие различных по составу и происхождению древостоев, оцениваются лесорастительные свойства дерново-подзолистых почв, а также динамика изменения структуры почвенного покрова таежно-лесной зоны. Фактически это является продолжением научно-исследовательских работ еще одного периода в жизни ученого, когда он был заведующим кафедрой лесоводства и геологии (2000–2004 гг.). Именно в те годы В.Д. Наумовым были разработаны и внедрены в учебном процессе курсы «Агролесомелиорация», «Лесоводство», «Лесоведение и лесоводство», «Лесные мелиорации ландшафтов».

Результатом работ на Лесной опытной даче явилось издание комплекта учебников, учебных пособий и монографий [20–25].

За годы работы с 2004 по 2009 гг., будучи проректором по учебной работе РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева в период подготовки и перехода к Болонской системе, В.Д. Наумов способствовал улучшению качества образования в университете, внедрению системы внутривузовской оценки качества образования, разработке программ и учебно-методических комплексов для бакалавриата и магистратуры. Затем, работая деканом факультета почвоведения, агрохимии и экологии в 2009–2015 гг., он активно открывал на факультете новые направления подготовки бакалавриата. Это 05.03.06 «Экология и природопользование», 21.03.02 «Землеустройство и кадастры», четыре магистерские программы по направлению 110100.68 «Агрохимия и агропочвоведение» и программа по направлению 250100.68 «Лесное дело».

С 2009 по 2022 гг. В.Д. Наумов был председателем диссертационного совета Д220.043.02 при РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальностям «Почвоведение» и «Агрохимия». В настоящее время он является членом ученого совета университета и института агробиотехнологии; с 2015 по 2022 гг. возглавлял кафедру почвоведения, геологии и ландшафтоведения. В.Д. Наумов состоит членом многих общественных организаций, является членом Всероссийского общества почвоведов, в 2012 г. избран почетным членом Общества почвоведов Азербайджана.

За большой личный вклад в дело подготовки специалистов для агропромышленного комплекса страны и активную научно-педагогическую деятельность В.Д. Наумову присвоено почетное звание «Заслуженный работник высшей школы РФ» (2011). Он отмечен ведомственными наградами – такими, как Почетная грамота Минсельхоза РФ (2004), Благодарственное письмо Минсельхоза РФ (2012), медаль К.А. Тимирязева (2012), медаль «Почетный агрохимик» (2012), Грамота УМО по агрономическому образованию (2013), Почетная грамота Минобрнауки

РФ (2014), Благодарность Председателя Государственной Думы Федерального Собрания Российской Федерации (2015), Золотая медаль Минсельхоза России (2017), золотые часы Минсельхоза России (2018), Диплом лауреата Премии имени академика В.Р. Вильямса в области почвоведения и земледелия (2019).

Коллектив кафедры почвоведения, геологии и ландшафтоведения, Институт агробиотехнологии, преподаватели и сотрудники университета поздравляют Владимира Дмитриевича Наумова с юбилеем, желают ему активной и плодотворной работы в учебной, научной и воспитательной деятельности.

### Библиографический список

1. *Наумов В.Д.* Влияние свойств почв на проявление розеточности яблони: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. М.: Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева, 1975. 18 с.
2. *Наумов В.Д.* Почвенно-экологические условия проявления розеточности яблони: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М.: Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева, 1994. 33 с.
3. *Наумов В.Д.* География почв: Учебное пособие. М.: КолосС, 2008. 288 с.
4. *Наумов В.Д.* География почв. Общая часть: Учебное пособие. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2010. 341 с.
5. *Наумов В.Д.* География почв. Общая часть: Учебник. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2017. 304 с.
6. *Наумов В.Д.* Толковый словарь по географии почв: Учебное пособие. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2010. 508 с.
7. *Наумов В.Д.* География почв: Терминологический словарь. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2020. 774 с.
8. *Наумов В.Д.* География почв: Толковый словарь. М.: Инфра-М, 2014. 460 с.
9. *Наумов В.Д.* География почв. Почвы России: Учебник. М.: Проспект, 2016. 344 с.
10. *Наумов В.Д.* География и экология почв: Учебное пособие. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2018. 261 с.
11. *Наумов В.Д.* Классификация почв: Учебник. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2018. 194 с.
12. *Наумов В.Д.* География почв. Почвы России: Учебник. Ч. 1. М.: РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2022. 208 с.
13. *Наумов В.Д., Кашанский А.Д.* География почв: Учебное пособие. Разд. 2. М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2017. 208 с.
14. *Наумов В.Д., Каменных Н.Л.* Почвоведение: Учебник для СПО. Саратов: Профобразование, 2022. 311 с.
15. *Naumov V.D.* Soil studies in the eastern zone of the socialist people, s Libyan Arab Jamahiriya (soil-ecological expedition v/o USSR. The Right for Republication of this Work Remains after Secretariat Agricultural Reclamstion and Land Development, SPLAJ.) Tripole, 1980 (Изучение почв Западной части социалистической народной Ливийской Арабской Джамахирии: Монография. англ. яз.).
16. *Наумов В.Д.* Почвы тропиков и субтропиков и их сельскохозяйственное использование. М.: Колос, 2007. 320 с.
17. *Наумов В.Д.* География почв. Почвы тропиков и субтропиков: Учебник. М.: Инфра-М, 2020. 284 с.
18. *Наумов В.Д.* Почвы тропиков и субтропиков: Учебник. М.: РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2022. 223 с.

19. *Наумов В.Д.* Почвенно-экологические условия заболевания яблони розеточностью: Монография. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2012. 444 с.
20. *Наумов В.Д., Поляков А.Н.* 145 лет Лесной опытной даче РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2009. 512 с
21. *Наумов В.Д., Поляков А.Н.* 150 лет Лесной опытной даче РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева: Монография. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2015. 344 с.
22. *Наумов В.Д., Поляков А.Н., Кореишков Н.В.* Лесная опытная дача РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева: Монография. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2013. 328 с.
23. *Наумов В.Д., Каменных Н.Л.* Засоленные, аллювиальные, горные почвы: Учебно-методическое пособие. М.: РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2021. 69 с.
24. *Наумов В.Д., Каменных Н.Л.* Почвенный покров бореального пояса: Учебно-методическое пособие. М.: РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2021. 75 с.
25. *Наумов В.Д., Каменных Н.Л.* Почвенный покров суббореального пояса: Учебное-методическое пособие. М.: РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2021. 69 с.

SCIENTISTS AND TEACHERS OF TIMIRYAZEV UNIVERSITY.  
NAUMOV VLADIMIR DMITRIEVICH

S.L. BELOPUKHOV, V.I. SAVICH

(Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

*The article is devoted to one of the leading scientists of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy in the field of soil science, Professor Naumov Vladimir Dmitrievich. The stages of formation of the scientist in the field of soil science and an outstanding teacher are shown. The contribution of the practical researcher to the study of soil formation factors for various regions of our country and foreign countries, soil classification, generalization of his own results on the physical chemistry of soils and literature data, their use in numerous textbooks and manuals, monographs for students of agrarian universities of the country is shown.*

**Key words:** *scientist, soil science, soils, soil classification, soil geography, agricultural soil science*

### References

1. *Naumov V.D.* Vliyanie svoystv pochv na proyavlenie rozetchnosti yabloni. Avtoreferat diss... kand. s.-kh. nauk [Effect of soil properties on the manifestation of apple tree rosette. PhD (Ag) thesis]. М.: Mosk. s.-kh. akademiya im. K.A. Timiryazeva, 1975: 18. (In Rus.)
2. *Naumov V.D.* Pochvenno-ekologicheskie usloviya proyavleniya rozetchnosti yabloni. Avtoreferat diss... doktora biologicheskikh nauk. [Soil and environmental conditions of apple tree rosettes. DSc (Bio) thesis]. М.: Mosk. s.-kh. akademiya im. K.A. Timiryazeva, 1994: 33. (In Rus.)
3. *Naumov V.D.* Geografiya pochv. Uchebnoe posobie [Geography of soils. Textbook]. М.: KolosS, 2008: 288. (In Rus.)
4. *Naumov V.D.* Geografiya pochv. Obshchaya chast': uchebnoe posobie [Geography of soils. General part: textbook]. М.: RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 2010: 341. (In Rus.)

5. *Naumov V.D.* Geografiya pochv. Obshchaya chast'. Uchebnik [Geography of soils. General part. Textbook]. M.: RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 2017: 304. (In Rus.)
6. *Naumov V.D.* Tolkoviy slovar' po geografii pochv: Uchebnoe posobie [Glossary on Soil Geography: Textbook.]. VM.: Izd-vo RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 2010: 508. (In Rus.)
7. *Naumov V.D.* Geografiya pochv. Terminologicheskii slovar': spravochnye izdaniya [Geography of soils. Terminological Dictionary: Reference Publications]. M.: Izd-vo RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 2020: 774. (In Rus.)
8. *Naumov V.D.* Geografiya pochv: tolkoviy slovar' Soil Geography: An Explanatory Dictionary]. M.: Infra-M, 2014: 460. (In Rus.)
9. *Naumov V.D.* Geografiya pochv. Pochvy Rossii: uchebnik [Geography of soils. Soils of Russia: textbook]. M.: Prospekt, 2016: 344. (In Rus.)
10. *Naumov V.D.* Geografiya i ekologiya pochv: uchebnoe posobie [Geography and ecology of soils: textbook]. M.: RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 2018: 261. (In Rus.)
11. *Naumov V.D.* Klassifikatsiya pochv: uchebnik [Classification of soils: Textbook]. M.: RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 2018: 194. (In Rus.)
12. *Naumov V.D.* Geografiya pochv. Pochvy Rossii. Chast' 1: uchebnik [Geography of soils. Soils of Russia. Part 1: textbook]. M.: RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 2022: 208. (In Rus.)
13. *Naumov V.D., Kashanskiy A.D.* Geografiya pochv. Razdel 2. Uchebnoe posobie [Geography of soils. Section 2. Textbook]. M.: FGBNU "Rosinformagrotekh", 2017: 208. (In Rus.)
14. *Naumov V.D., Kamennykh N.L.* Pochvovedenie: uchebnik dlya SPO [Soil science: textbook for VET]. Saratov: Profobrazovanie, 2022: 311. (In Rus.)
15. *Naumov V.D.* Soil studies in the eastern zone of the socialist people's Libyan Arab Jamahiriya (soil-ecological expedition v/o USSR. The Right for Republication of this Work Remains after Secretariat Agricultural Reclamation and Land Development, SPLAJ.). Tripole, 1980.
16. *Naumov V.D.* Pochvy tropikov i subtropikov i ikh sel'skokhozyaystvennoe ispol'zovanie [Soils of the tropics and subtropics and their agricultural use]. M.: Kolos, 2007: 320. (In Rus.)
17. *Naumov V.D.* Geografiya pochv. Pochvy tropikov i subtropikov [Geography of soils. Soils of the tropics and subtropics]. M.: Infra-M, 2020: 284. (In Rus.)
18. *Naumov V.D.* Pochvy tropikov i subtropikov: uchebnik [Soils of the tropics and subtropics: Textbook]. M.: RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 2022: 223. (In Rus.)
19. *Naumov V.D.* Pochvenno-ekologicheskie usloviya zabolevaniya yabloni roze-tochnost'yu: monografiya [Soil ecological conditions of apple tree rosette disease: monograph]. M.: Izdatel'stvo RGAU-MSKhA, 2012: 444. (In Rus.)
20. *Naumov V.D., Polyakov A.N.* 145 let Lesnoy opytной dache RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva [145th anniversary of the Timiryazev Forest Experimental Dacha of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy]. M.: RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, 2009: 512. (In Rus.)
21. *Naumov V.D., Polyakov A.N.* 150 let Lesnoy opytной dache RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva: monografiya [150 years of the Forest Experimental Dacha of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy: monograph]. M.: RGAU-MSKhA im. K.A. Timiryazeva, 2015: 344. (In Rus.)
22. *Naumov V.D., Polyakov A.N., Koreshev N.V.* Lesnaya opytная dacha RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva: monografiya [The Forest Experimental Dacha of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy: monograph]. M.: Izd-vo RGAU-MSKhA, 2013: 328. (In Rus.)

23. *Naumov V.D., Kamennykh N.L.* Zasolennye, allyuvial'nye, gornye pochvy: uchebno-metodicheskoe posobie [Saline, alluvial, mountainous soils: training manual]. M.: RGAU-MSKHA imeni K.A. Timiryazeva, 2021: 69. (In Rus.)

24. *Naumov V.D., Kamennykh N.L.* Pochvenniy pokrov boreal'nogo poyasa: uchebno-metodicheskoe posobie [Soil cover of the boreal belt: training manual]. M.: RGAU-MSKHA imeni K.A. Timiryazeva, 2021: 75. (In Rus.)

25. *Naumov V.D., Kamennykh N.L.* Pochvenniy pokrov subboreal'nogo poyasa: uchebno-metodicheskoe posobie [Soil cover of the sub-boreal belt: training manual]. M.: RGAU-MSKHA imeni K.A. Timiryazeva, 2021: 69. (In Rus.)

**Белопухов Сергей Леонидович**, д-р с.-х. наук, профессор, советник при ректорате, профессор кафедры химии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976–32–16; e-mail: sbelopuhov@rgau-msha.ru

**Савич Виталий Игоревич**, д-р с.-х. наук, профессор, профессор кафедры почвоведения, геологии и ландшафтоведения РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976–32–16; e-mail: savich@gmail.com

**Sergey L. Belopukhov**, DSc (Ag), Professor, Advisor at the Rectorate, Professor of the Department of Chemistry, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–32–16; E-mail: sbelopuhov@rgau-msha.ru)

**Vitaliy I. Savich**, DSc (Ag), Professor, Professor of the Department of Soil Science, Geology and Landscape Science, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–32–16; E-mail: savich@gmail.com)

## ВКЛАД В.С. БУТКЕВИЧА В МИКРОБИОЛОГИЮ И ПОДГОТОВКУ КАДРОВ В ТИМИРЯЗЕВКЕ

О.Д. СИДОРЕНКО

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева)

*В стенах Тимирязевской академии зарождались многие научно-педагогические школы, новые научные и учебные направления и дисциплины. Люди науки успешно решали практические задачи, принципиальные проблемы в конкретный период. Краткая информация о профессоре В.С. Буткевиче – дань памяти умному и сильному человеку: микробиологу, физиологу растений, биохимику, обладавшему энциклопедическими знаниями.*

**Ключевые слова:** теория дыхания, индикация микроорганизмов, микробиологическая разведка нефти и газа, потребность почв в элементах питания, научный синтез.



**Фото 1.** В.С. Буткевич  
в аудитории университета

150 лет назад в Тульской губернии родился Владимир Степанович Буткевич. В Энциклопедическом словаре (1979, с. 184) записано: «Буткевич Вл. Степ. (1872–1942), сов. физиолог растений и биохимик, ч. – к. АН СССР (1929)...». Для энциклопедистов этих коротких строк, может быть, достаточно, но для тимирязевцев-патриотов необходимы подробности о профессоре, возглавлявшем кафедру микробиологии в течение 14 лет. В то же время хорошо известно, что длительность управления не может гарантировать качество руководства кафедрой.

Прежде всего В.С. Буткевич был выдающимся учеником К.А. Тимирязева, Д.Н. Прянишникова, Н.Н. Худякова. Он блестящий экспериментатор и теоретик. Исследования по химизму образования и дальнейшего превращения органических кислот в растениях почти целиком созданы В.С. Буткевичем и являются крупным достижением русской биологической науки. Им разработана новая оригинальная теория

дыхания: основой процесса является окисление углеводов без предварительного расщепления их по типу спиртового брожения. Его заслуги – в промышленном получении лимонной кислоты с помощью гриба *Aspergillus*, микробиологической разведке нефти и горючих газов, выявлении потребности сельскохозяйственных угодий в фосфоре и калии и т.д. Его работы открыли горизонт для будущих исследователей физиологии растений, микробиологии почвы, биохимии пищевой промышленности.

Экспериментальная наука имеет исключительное значение и является главным условием ускорения технического прогресса XX–XXI вв. В.С. Буткевич стоял у истоков перспективных научных направлений изучения взаимосвязи системы

«Растение-микроорганизмы» и процессов биологической фиксации азота атмосферы. Научные работы на кафедре микробиологии МСХА им. К.А. Тимирязева всегда выполнялись экспериментально точно, были методически выверенными и давали новые интересные и перспективные результаты для теории и практики. Возможно, поэтому В.С. Буткевич считал, что курс лекций по микробиологии для студентов должен быть подлинно научной работой.

Владимира Степановича Буткевича современники признавали выдающимся ученым. Его научные сообщения вызывали величайший интерес. Так, Д.Н. Прянишников (1944) отмечал, что в работах В.С. Буткевича «...сообщались только многократно проверенные факты, никогда не вызывающие сомнений в их безусловной достоверности». Начиная с конца прошлого века, В.С. Буткевич активно участвовал в разработке водной, морской, геологической микробиологии наравне с академиками Г.А. Надсоном, Б.Л. Исаченко, Е.Е. Успенским, С.И. Кузнецовым.

По словам академика А.А. Имшенецкого (директора ИНМИ АН СССР им. С.Н. Виноградского), В.С. Буткевичем выполнена интереснейшая классическая работа по выявлению роли морских бактерий как конденсаторов рассеянных в морской воде органических элементов и как пищевого звена в цепи морских живых существ. Благодаря его работам возникло даже отдельное направление в морской микробиологии, связанное с биологической пищевой продуктивностью морей. Другими словами, В.С. Буткевич стоял у истоков и сыграл большую роль в создании и развитии отечественной морской микробиологии как научной дисциплины.

Классическая формула Д.Н. Прянишникова «Аммиак есть альфа и омега превращения азотистых веществ в растениях», по словам профессора М.В. Федорова, была установлена В.С. Буткевичем при определении физиологической роли аспарагина. В 23 года он получил ученую степень магистра ботаники и звание профессора, впервые экспериментально установил, что аспарагин, который ранее рассматривался как первичный продукт распада белка, является вторичным продуктом его распада в растительных клетках. Это служило подтверждением единства законов превращения белков в растительных и животных организмах.



**Фото 2.** Коллектив кафедры под руководством В.С. Буткевича



**Фото 3.** Коллектив кафедры под руководством В.С. Буткевича

В.С. Буткевич был мастером научного синтеза, таких немного. Такие исследователи вносят в науку новые идеи, конструируют для человечества мир, каким его никто прежде не видел. Буткевич – творец науки.

Закономерно, что среди многочисленных учеников В.С. Буткевича – знаменитые ученые, которые позднее создали свои школы физиологов растений и микробиологов. Это академик АН СССР А.Л. Курсанов, академик АМН СССР З.В. Ермольева (о которой кафедра «забыла»), чл.-корр. ВАСХНИЛ М.В. Федоров, профессора В.О. Таусон, А.А. Гуревич и др. Он собирал вокруг себя работников-исполнителей, хорошо подготовленных профессионально, владеющих разнообразными методами исследований и техникой экспериментирования.

В.С. Буткевич пользовался огромным научным авторитетом среди ученых всего мира. Мировая наука признавала выдающиеся заслуги ученого безусловно. В 1939 г. в Нью-Йорке на Международном конгрессе микробиологов Владимир Степанович Буткевич был избран почетным вице-президентом секции микробиологии, химии и физиологии Международной ассоциации микробиологов.

Среди микробиологов и физиологов растений XX в. В.С. Буткевич занимает достойное место: он член-корреспондент АН СССР; академик ВАСХНИЛ; Лауреат государственной премии (за научные достижения); доктор биологических и сельскохозяйственных наук (1934); профессор; награжден орденом Трудового Красного Знамени.

### **Выводы**

Путь В.С. Буткевича в науку был прямым и естественным. Он отлично учился в Тульской классической гимназии, успешно сдал вступительные экзамены в Московский университет, дипломную работу выполнял под руководством самого К.А. Тимирязева, затем поступил на агрономическое отделение Московского сельскохозяйственного института (МСХА); в 23 года получил одновременно ученую степень магистра ботаники и звание профессора. Он всегда размышлял над теми научными проблемами, решение которых принесет в будущем мировое признание.

## Библиографический список

1. *Казарезов В.В.* Золотая летопись Тимирязевки. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2014. С. 289–293.
2. *Сидоренко О.Д.* Кафедра микробиологии и мировая наука: Исторический очерк. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2018. С. 84.

### V.S. BUTKEVICH'S CONTRIBUTION TO MICROBIOLOGY AND TRAINING AT TIMIRYAZEV UNIVERSITY

O.D. SIDORENKO

(Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

*Many scientific and pedagogical schools, new scientific and academic fields and disciplines emerged within the walls of Timiryazev Academy. People of science successfully solved practical problems and fundamental problems in a particular period. Brief information about Professor V.S. Butkevich is a tribute to a clever man with plenty of guts – microbiologist, plant physiologist, biochemist, who possessed encyclopaedic knowledge.*

**Key words:** *theory of respiration, indication of microorganisms, microbiological exploration of oil and gas, soil nutrient requirements, scientific synthesis.*

### References

1. *Kazarezov V.V.* Zolotaya letopis' Timiryazevki [Golden Chronicle of Timiryazev University]. Moscow, 2014: 289–293. (In Rus.)
2. *Sidorenko O.D.* Kafedra mikrobiologii i mirovaya nauka (istoricheskiy ocherk) [Department of Microbiology and World Science (historical essay)]. M.: RGAU-MSKhA, 2018: 84. (In Rus.)

**Сидоренко Олег Дмитриевич**, канд. биол. наук., д-р с.-х. наук, профессор, профессор кафедры микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева  
**Oleg D. Sidorenko**, PhD (Bio), DSc (Ag), Professor, Professor of the Department of Microbiology and Immunology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation)

## СОДЕРЖАНИЕ

## БОТАНИКА, ПЛОДОВОДСТВО

<i>Раджабов А.К., Тер-Петросянц Г.Э., Фадеев В.В.</i> Результаты изучения элементного состава и качества виноматериалов из устойчивых сортов винограда нового поколения.....	5
<i>Савинов И.А., Соломонова Е.В., Трусов Н.А., Симаков Г.А.</i> Ботаническая оценка лекарственного потенциала древогубцев ( <i>Celastrus L.</i> ) .....	13

ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ,  
СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО

<i>Блинова С.А., Коньшиева М.Л., Шварцев А.А., Соловьев А.А., Алексеев Я.И., Мазурин Е.С.</i> Оптимизация молекулярно-генетических методов диагностики грибов рода <i>Sclerotinia</i> .....	31
<i>Вишнякова А.В., Александрова А.А., Монахов С.Г.</i> Факторы прямого прорастания микроспорогенных эмбрионидов <i>Brassica Napus L.</i> .....	43
<i>Ворончихина И.Н., Сидоренко В.С., Рубец В.С., Пыльнев В.В., Игонин В.Н., Ворончихин В.В., Груздев И.В.</i> Оценка качества зерна сортов яровой пшеницы с фиолетовой окраской зерна в условиях ЦРНЗ .....	54
<i>Гатаулина Г.Г., Шитикова А.В., Медведева Н.В.</i> Семенная продуктивность и адаптивность сортов люпина белого в условиях Центрально-Черноземного региона .....	67
<i>Никитина Е.А., Архипов А.В., Минькова Я.В., Яновский А.С., Коробкова В.А., Самарина М.А., Черноок А.Г., Крутин П.Ю., Карлов Г.И., Дивашук М.Г.</i> Конкурентная аллель-специфичная ПЦР (KASP): особенности, интерпретация результатов .....	79

ЗЕМЛЕДЕЛИЕ, РАСТЕНИЕВОДСТВО,  
ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

<i>Пономаренко Е.К., Попов С.Я., Байков А.А., Гинс М.С.</i> Инструментальный экономический уровень поврежденности и экономический порог вредоносности популяций паутинного клеща на землянике .....	94
<i>Тарабрин А.М., Кондаков К.С., Вертикова Е.А.</i> Оценка качества надземной биомассы суданской травы для селекции в условиях Нижнего Поволжья .....	112
<i>Дацюк А.А., Тараканов Р.И.</i> Оценка антибактериальных свойств эфирных масел и растительных экстрактов по отношению к возбудителям черной ножки картофеля .	123

ТЕХНОЛОГИЯ ХРАНЕНИЯ И ПЕРЕРАБОТКИ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПРОДУКЦИИ

<i>Канина К.А., Жижин Н.А., Атанасов П.Р., Пастух О.Н.</i> Характеристика овечьего молока как сырья для производства молочных продуктов.....	146
--	-----

## УЧЕНЫЕ ТИМИРЯЗЕВКИ

<i>Белопухов С.Л., Савич В.И.</i> Ученые и педагоги Тимирязевки. Наумов Владимир Дмитриевич.....	159
<i>Сидоренко О.Д.</i> Вклад В.С. Буткевича в микробиологию и подготовку кадров в Тимирязевке .....	166

## CONTENTS

## BOTANY, POMICULTURE

<i>Radzhabov A.K., Ter-Petrosyants G.E., Fadeev V.V.</i> Results of the study of the elemental composition and quality of wine materials from resistant grape varieties of the new generation	5
<i>Savinov I.A., Solomonova E.V., Trusov N.A., Simakov G.A.</i> Botanical evaluation of medicinal potential of bittersweets ( <i>Celastrus</i> L.) .....	13

GENETICS, BIOTECHNOLOGY,  
SELECTION AND SEED BREEDING

<i>Blinova S.A., Konyshcheva M.L., Shvartsev A.A., Solov'ev A.A., Alekseev Ya.I., Mazurin E.S.</i> Optimisation of molecular-genetic methods for diagnosing fungi of Genus <i>Sclerotinia</i> .....	31
<i>Vishnyakova A.V., Aleksandrova A.A., Monakhos S.G.</i> Factors of direct germination of microspore derived embryos of <i>Brassica napus</i> L.....	43
<i>Voronchikhina I.N., Sidorenko V.S., Rubets V.S., Pylnev V.V., Igonin V.N., Voronchikhin V.V., Gruzdev I.V.</i> Evaluating the grain quality of spring wheat varieties with purple grain coloring in the conditions of the Central region of the Non-Chernozem zone .....	54
<i>Gataulina G.G., Shitikova A.V., Medvedeva N.V.</i> Seed productivity and adaptability of varieties of white lupin in the conditions of the Central Chernozem zone .....	67
<i>Nikitina E.A., Arkhipov A.V., Min'kova Ya.V., Yanovskiy A.S., Korobkova V.A., Samarina M.A., Chernook A.G., Krupin P.Yu., Karlov G.I., Divashuk M.G.</i> Competitive allele specific PCR (KASP): features, the interpretation of the results .....	79

AGRONOMY, CROP PRODUCTION,  
PLANT PROTECTION

<i>Ponomarenko E.K., Popov S.Ya., Baykov A.A., Gins M.S.</i> Instrumental economic injury level and economic threshold of spider mite populations on strawberries .....	94
<i>Tarabrin A.M., Kondakov K.S., Vertikova E.A.</i> Evaluation of the quality of above-ground biomass of sudan grass for breeding in the conditions of the Lower Volga region.....	112
<i>Datsyuk A.A., Tarakanov R.I.</i> Evaluation of the antibacterial properties of essential oils and plant extracts against potato blackleg pathogens.....	123

FARM PRODUCE STORAGE  
AND PROCESSING TECHNOLOGY

<i>Kanina K.A., Zhizhin N.A., Atanasov P.R., Pastukh O.N.</i> Characteristics of sheep's milk as raw material for the production of dairy products .....	146
--	-----

## SCIENTISTS OF TIMIRYAZEV UNIVERSITY

<i>Belopukhov S.L., Savich V.I.</i> Scientists and teachers of Timiryazev University. Naumov Vladimir Dmitrievich .....	159
<i>Sidorenko O.D.</i> V.S. Butkevich's contribution to microbiology and training at Timiryazev University .....	166

**Журнал «ИЗВЕСТИЯ ТИМИРЯЗЕВСКОЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ АКАДЕМИИ»**

e-mail: [izvtsha@rgau-msha.ru](mailto:izvtsha@rgau-msha.ru)

тел.: (499) 976–07–48

---

Подписано в печать 23.12.2022 г. Формат 70×100/16 Бумага офсетная  
Гарнитура шрифта «Times New Roman» Печать офсетная. 10,75 печ. л.  
Тираж 500 экз.

---

Отпечатано в ООО «ЭйПиСиПублишинг»  
127550, г. Москва, Дмитровское ш., д. 45, корп. 1, оф. 8  
Тел.: (499) 976–51–84