

ISSN 2500-2627

Номер 1

Январь - Февраль 2023



РОССИЙСКАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ НАУКА

www.sciencejournals.ru

Научно-теоретический журнал



Растениеводство, защита и биотехнология растений

- Гончаренко А.А., Макаров А.В., Семенова Т.В., Точилин В.Н., Клочко Н.А., Гончаренко М.С., Крахмалева О.А.**
Оценка комбинационной способности инбредных линий озимой ржи по методу топкросса 3
- Илюшко М.В., Ромашова М.В., Гученко С.С.**
Влияние метелок, сформированных на побегах разного порядка, на андрогенетические ответы *in vitro* риса *Oryza sativa* L. 9
- Бабанина С. С., Егорова Н. А., Ставцева И. В., Абдурашитов С. Ф.**
Генетическая стабильность растений лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) при длительном клональном микроразмножении 13
- Тормозин М. А., Чернявских В. И., Сайфутдинова Л. Д., Зырянцева А. А.**
Экологическое изучение сортообразцов люцерны различного географического происхождения в условиях юга Среднерусской возвышенности 20
- Емелева Н. В., Баталова Г. А.**
Влияние метеорологических факторов на формирование урожайности голозёрного овса в Кировской области 25
- Воронов С. И., Князева Е. П., Пикуль А. Н., Кузнецов В. К.**
Динамика накопления ¹³⁷CS, ботанического состава и продуктивности бобово-злаковых смесей в Тульской области 30
- Шабает В.П., Остроумов В.Е.**
Урожай яровой пшеницы при применении ростстимулирующей ризосферной бактерии на загрязненной никелем почве 35
- Колесников Л.Е., Белимов А.А., Хасан Б.А., Колесникова Ю.Р., Киселев М.В., Минаков Д.С.**
Использование ассоциативных ризобактерий для оптимизации фитосанитарного состояния посевов зерновых культур 40
- Агрочвоведение и агроэкология**
- Бойцова Л. В., Непримерова С. В., Зинчук Е. Г.**
Депонирование органического углерода в дерново-подзолистой супесчаной почве 48
- Пухальский Я.В., Лоскутов С.И., Воробьев Н.И., Чукаева М.А., Нагорнов Д.О., Шапошников А.И., Азарова Т.С., Кожемяков А.П.**
Изменение биохимического профиля корневых экзометаболитов гороха посевного под воздействием тяжелых металлов 53
- Зоотехния и ветеринария**
- Сайфульмулюков Э.Р., Мифтахутдинов А.В.**
Эффективность комплексного применения фармакологических средств для сохранения биоресурсного потенциала цыплят-бройлеров в условиях переуплотненной посадки, отягощенной высокой температурой окружающей среды 64
- Шумилина А.Р., Кровина Е.В., Голованова Е.В., Тинаев Н.И., Косовский Г.Ю.**
Продуктивность молодняка кроликов создаваемой новой породы 68

Plant Growing, Plant Protection and Biotechnology

- Goncharenko A. A., Makarov A. V., Semenova T. V., Tochilin V. N., Clochko N.A., Goncharenko M. S., Krakhmaleva O. A.**
Assessment of combinational ability of inbred lines of winter rye by the topcross method 3
- Ilyushko M.V., Romashova M.V., Guchenko S.S.**
Panicle formation order influence in rice *Oryza sativa* L. *in vitro* androgenesis 9
- Babanina S.S., Yegorova N.A., Stavtseva I.V., Abdurashitov S.F.**
Genetic stability of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) plants obtained during long-term clonal micropropagation 13
- Tormozin M. A., Cherniavskih V. I., Sajfutdinova L.D., Zyryantseva A. A.**
Ecological study of alfalfa varieties of different geographical origin in the south of the central russian upland 20
- Emeleva N. V., Batalova G. A.**
The influence of meteorological factors on the yield formation of naked oats under conditions of the Kirov region 25
- Voronov S. I., Knyazeva E. P., Pikul A. N., Kuznetsov V. K.**
Dynamics of accumulation of ¹³⁷CS, botanical composition and productivity of legume-cereal mixtures in the Tula region 30
- Shabayev V.P., Ostroumov V.E.**
Spring wheat yield under application of growth promoting rhizobacterium in soil contaminated with nickel 35
- Kolesnikov L.E., Belimov A.A., Hassan B.A., Kolesnikova Yu.R., Kiselev M.V., Minakov D.S.**
The optimization of grain crops' phytosanitary condition with the associative rhizobacteria application 40

Agricultural Soil Science and Agroecology

- Boitsova L. V., Neprimerova S. V., Zinchuk E. G.**
Sequestration of organic carbon in soddy-podzolic sandy soil 48
- Puhalsky J.V., Loskutov S.I., Vorobyov N.I., Shaposhnikov A.I., Chukaeva M.A., Nagornov D.O., Azarova T.S., Kozhemyakov A.P.**
Effect of heavy metals on changes in the biochemical profile of pea root exudates 53

Animal Science and Veterinary Medicine

- Saifulmulyukov E.R., Miftakhutdinov A.V.**
The effectiveness of the complex use of pharmacological agents to preserve the bioresource potential of broiler chickens in conditions of overcompacted planting aggravated by high ambient temperature 64
- Shumilina A.R., Korovina E.V., Golovanova E.V., Tinaev N.I., Kosovsky G.Y.**
Productivity of young animals of a new breed of rabbits being created 68

Растениеводство, защита и биотехнология растений

УДК 614.14:575.222.6

DOI: 10.31857/S2500262723010015, EDN: PCYFKW

ОЦЕНКА КОМБИНАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ ОЗИМОЙ РЖИ ПО МЕТОДУ ТОПКРОССА**А.А. Гончаренко**, академик РАН, **А.В. Макаров**, доктор сельскохозяйственных наук, **Т.В. Семенова**, **В.Н. Точилин**, **Н.А. Клочко**, **М.С. Гончаренко**, кандидаты сельскохозяйственных наук, **О.А. Крахмалева**Федеральный исследовательский центр «Немчиновка»,
143026, Московская обл., Одинцовский р-н, р.п. Новоивановское, ул. Агрохимиков, 6
E-mail: goncharenko05@mail.ru

Идентификация перспективных по комбинационной способности инбредных линий озимой ржи – важный этап гибридной селекции. Исследования проводили с целью оценки общей и специфической комбинационной способности инбредных линий озимой ржи по методу полных топкроссов. Материнскими формами служили 30 гомозиготных линий ржи, несущие стерильную цитоплазму типа Пампа. В качестве тестеров использовали 4 мужски фертильные гомозиготные линии *mFH-1432*, *mFH-1423*, *mFH-1147* и *mFH-1842*. Тестовые скрещивания проводили в 2019 г. на пространственно-изолированных участках. Всего было создано 120 простых межлинейных гибридов F1. Их испытание проводили в 2020 г. на делянках 8,0 м² в 2-х повторениях. В качестве стандарта использовали популяционный сорт Валдай. Урожайность гибридов F1 варьировала от 5,08 до 7,55 т/га при средней величине этого показателя в опыте 6,27 т/га. Наиболее урожайными оказались гибриды с участием линии *msH-1185-1*. Их урожайность варьировала от 6,92 до 7,48 т/га в зависимости от тестера. Частота встречаемости гибридов F1 с достоверно высоким конкурсным гетерозисом составила 20 из 120, или 16,7 %. В дисперсию признака урожайности существенный вклад вносили как общая (ОКС), так и специфическая (СКС) комбинационная способность. При этом на долю эффектов ОКС приходилась 91,2 % дисперсии урожайности, СКС – 6,9 %. Высокое отношение varianс ОКС/СКС указывает на достаточно высокую генетическую дивергенцию инбредных линий, взятых для скрещивания. Достоверно высокая ОКС отмечена у 7 стерильных линий: *ms H-1185-1*, *msH-1185-2*, *msH-1179*, *msH-1238*, *msH-700*, *msH-48*, *msH-1247*. Среди линий-тестеров лучшей по ОКС была *mFH-1147*. Высокие эффекты СКС продемонстрировали линии *msH-451*, *msH-577*, *msH-842*, *msH-1185-2* и *msH-1190*, а также тестеры *mFH-1432* и *mFH-1423*. Средняя урожайность гибридов с участием линий с высокой ОКС была достоверно больше, чем у гибридов с участием линий с высокой СКС (6,76 т/га против 6,24 т/га, $t_{\text{факт.}}=3,38 > t_{05}=2,22$). Существенно меньшей ОКС обладали 9 стерильных линий. Выявлена положительная корреляция между эффектами ОКС линий и уровнем их собственной урожайности ($r=0,59$, $t_{\text{факт.}}=2,30 > t_{05}=2,22$).

ASSESSMENT OF COMBINATIONAL ABILITY OF INBRED LINES OF WINTER RYE BY THE TOPCROSS METHOD**A. A. Goncharenko**, **A. V. Makarov**, **T. V. Semenova**, **V. N. Tochilin**, **N. A. Clochko**, **M. S. Goncharenko**, **O. A. Krakhmaleva**Federal Research Center «Nemchinovka»,
143026, Moskovskaya obl., Odintsovskii r-n, r.p. Novoivanovskoe, ul. Agrokhimikov, 6
E-mail: goncharenko05@mail.ru

Identification perspective on combinational ability of the inbred lines of winter rye is an important stage in hybrid breeding. The purpose of researches – to estimate the general and specific combinational ability of the inbred lines of winter rye by a method of full top crossings. As a maternal form 30 homozygous lines of rye bearing sterile cytoplasm Pampas type served. As testers 4 male fertile homozygous lines used : *mFH-1432*, *mFH-1423*, *mFH-1147* and *mFH-1842*. Test crossings carried out in 2019 on spatially the isolated lines. In total 120 simple interlinear hybrids of F1 were received. Their test carried out in 2020 on plots 8,0 m² in 2 repetitions at norm of seeding of 500 grains on 1 m². As the standard used population variety Valдай. Productivity of hybrids F1 varied from 5,08 to 7,55 t/hectare at average productivity in experience 6,27 t/hectare. Hybrids with participation of the line *msH-1185-1* were the most yielding. Their productivity varied from 6,92 to 7,48 t/hectare depending on a tester. Frequency of hybrids of F1 with authentically high competitive heterosis made 20 of 120 or 16,7 %. In dispersion of a sign of productivity the essential contribution was made both the general (GCA), and to SCA share – 6,9 %. The high relation varianсes by GCA/SCA is pointed to rather high genetic divergence by the inbred lines taken for crossing. Authentically high GCA showed 7 sterile lines: *ms H-1185-1*, *msH-1185-2*, *msH-1179*, *msH-1238*, *msH-700*, *msH-48*, *msH-1247*. Among lines testers of the best on GCA there was *mFH-1147*. High effects of SCA showed the *msH-451*, *msH-577*, *msH-842*, *msH-1185-2* and *msH-1190* lines, and also testers of *mFH-1432* and *mFH-1423*. It is characteristic that average productivity of hybrids with participation of lines with high GCA was authentically above, than average productivity of hybrids with participation of lines from high SCA (6,76 t/hectare against 6,24 t/hectare, $t_{\text{факт.}}=3,38 > t_{05}=2,22$). Significantly low GCA possessed 9 sterile lines. Positive correlation between effects of GCA lines and level of their own productivity is revealed ($r=0,59$, $t_{\text{факт.}}=2,30 > t_{05}=2,22$).

Ключевые слова: озимая рожь (*Secale cereale* L.), гомозиготные линии, цитоплазматическая мужская стерильность, общая и специфическая комбинационная способность, тестер, гибрид, урожайность.

Key words: winter rye (*Secale cereale* L), cytoplasmic male sterility (CMS), tester, homozygous inbred line, hybrid, general (GCA) and specific (SCA) combinational ability, productivity.

Важный этап в гибридной селекции озимой ржи – создание гомозиготных инбредных линий с высокой комбинационной способностью [1]. Под этим свойством

подразумевается способность линий давать высокогетерозисное потомство в межлинейных скрещиваниях. Оно определяется не только их хозяйственно ценными при-

знаками, но и генетическими особенностями, выявление которых сложный и трудозатратный этап селекционного процесса.

Комбинационную способность подразделяют на общую (ОКС) и специфическую (СКС). Такое разделение впервые обосновали теоретически и доказали экспериментально Sprague G.F. и Tatum L.G. на кукурузе [2]. Они показали, что ОКС выражает среднюю ценность родительской формы в гибридных комбинациях с ее участием и измеряется отклонением величины признака от среднего по всем испытываемым гибридам. Оценка по ОКС предполагает выявление линий, скрещивание с которыми приводит к созданию гибридов, превышающих по урожайности лучшие гибридные комбинации. Оценка на СКС позволяет выявить те пары линий, которые дают лучший высоко гетерозисный гибрид. Если эффект гетерозиса в конкретной комбинации существенно выше, чем можно ожидать на основании ОКС линии, это значит, что она обладает высокой СКС. Генетическая основа обоих этих феноменов базируется на предположении, что ОКС служит результатом аддитивного взаимодействия генов, тогда как СКС зависит от степени доминирования в локусах, эпистаза и взаимодействия генотипа со средой.

Для оценки комбинационной способности используют различные системы скрещивания (топкросс, поликросс, сетпросс, диаллельные скрещивания) [3]. Сущность метода топкросса заключается в скрещивании инбредных линий с общим тестером, в качестве которого могут быть использованы линии, гибриды или сорта [4]. Основное его преимущество – возможность провести предварительную оценку относительно большого числа линий по их способности давать гетерозисные гибриды при сочетании с другими линиями. Особенность метода состоит в том, что при использовании только одного тестера он не обеспечивает оценку тестируемых линий по СКС, то есть выявить комбинации с высоким сверхдоминированием не удастся. Чтобы этого избежать, в схему топкросса включают несколько тестеров (два, три и более) [5].

Оценку линий озимой ржи на комбинационную способность рекомендуется начинать уже в первых поколениях инбридинга (I_1 - I_3), так как вероятность расщепления по этому признаку в последующих поколениях весьма небольшая [6]. Другая особенность заключается в том, что по этому признаку требуется оценить большое число линий. Такая необходимость обусловлена тем, что гетерозис по урожайности проявляется не у всех гибридов и не по всем элементам продуктивности [7]. Имеются данные, что межлинейные гибриды ржи проявляют более высокий гетерозис, чем межсортовые [8, 9]. По данным Шимко В.Е. и др. [10] эффект гетерозиса у ржи варьирует в зависимости от генетической ценности скрещиваемых форм. Поэтому нельзя выделить какой-либо один главный признак, наиболее сильно определяющий уровень гетерозиса по урожаю зерна. Причина в том, что каждой гибридной комбинации свойственно оптимальное сочетание этих признаков [11]. В.П. Деревянко и Д.К. Егоров [12] проанализировали большое число гибридных комбинаций, полученных с использованием различных схем скрещивания (топкроссных, поликроссных, сортолинейных, межлинейных), и выделили только 20 % линий с высокой ОКС. При этом если учитывать экономически значимый гетерозис, то их частота будет еще ниже. Причина в том, что хорошие инбредные линии могут иметь генетическое родство по происхождению, из-за чего эффект гетерозиса снижается. Максимальное проявление гетерозиса обеспечивает только скрещивание генетически разных инбредных линий [13]. При

использовании в качестве тестера нескольких линий метод топкросса позволяет получить сведения об их СКС, не прибегая к диаллельному скрещиванию. Изучение в качестве тестеров 5 инбредных линий кукурузы показало [14], что лучшими в этом случае будут формы с повышенной собственной урожайностью и высокими эффектами ОКС. Как метод ранней диагностики такой топкросс можно считать эффективным приемом и при гибридной селекции ржи [15].

Имеются сведения, что оценки ОКС по урожайности могут коррелировать с высотой растений, массой 1000 зерен и другими признаками [16, 17]. В этой связи представляет интерес возможность косвенного прогнозирования гибридной мощности. Установлено [18], что эффективный прогноз продуктивности межлинейных гибридов можно провести на основе данных о собственной продуктивности инбредных линий (*per se*). Лучше всего для этого подходят структурно простые признаки, средняя величина которых у родительских линий может служить хорошим ориентиром для прогноза их проявления у гибридов. Однако для более сложных признаков, как, например, урожайность, прогнозирование гибридной мощности менее точно из-за проявления эффектов доминирования. В работах T. Miedaner et al. [19] обнаружена достоверная корреляция между продуктивностью родительских линий *per se* и продуктивностью гибридов ржи, на основе чего было сделано заключение, что таким образом можно сократить затраты на полевые испытания тесткроссов. По другим данным [20] генетические корреляции между продуктивностью линий *per se* и их тесткроссами были промежуточными по своему значению. Было сделано заключение, что супер высокая продуктивность линий ржи не гарантирует наибольшую продуктивность гибридов. Поэтому отбор линий на уровне фенотипа должен сочетаться с параллельным испытанием тесткроссов на всех этапах гибридной селекции.

При отборе инбредных линий в качестве ориентира можно использовать не только оценки ОКС по урожайности, но и другие признаки. Miedaner T. and Geiger H.H. [21] изучили устойчивости к фузариозу колоса у 40 простых межлинейных гибридов озимой ржи и констатировали, что вариация ОКС по этому признаку была в 10 раз выше, чем вариация СКС. Было сделано заключение о преобладании аддитивного взаимодействия генов в контроле изучаемого признака и определена соответствующая стратегия селекции [22]. Имеются также данные, что эффект гетерозиса тем выше, чем сильнее дифференцированы родительские формы по изучаемому признаку [23]. При этом наибольший гетерозис по урожаю зерна у ржи достигается благодаря изменению массы зерна с колоса и крупности зерна [24, 25].

Цель исследований – оценить общую и специфическую комбинационную способность стерильных инбредных линий озимой ржи по урожайности на основе скрещиваний их с разными тестерами по схеме полных топкроссов и выделить лучшие для гибридной селекции.

Методика. Инбредные линии получали методом многократного инцухта растений из гибридных популяций от скрещивания сортов ржи Альфа, Валдай, Восход 1 и Восход 2 (немчиновский генопул), Саратовская 5, Саратовская 6, Безенчукская 87 (саратовский генопул) и Вятка 2 (вятский генопул) с различными донорами самофертильности. В первых поколениях инцухта отбирали лучшие генотипы по зимостойкости, короткостебельности, продуктивности колоса, массе 1000 зерен, устойчивости к грибным болезням. В результате

Табл. 1. Урожайность простых межлинейных гибридов F1 озимой ржи, т/га

Стерильная линия	Фертильная линия (тестер)				Среднее (X_i)
	mf Н-1432	mf Н-1423	mf Н-1147	mf Н-1842	
ms Н-31	5,15	5,95	6,10	5,36	5,64±0,23
ms Н-48	6,98*	6,53	6,60	6,00	6,53±0,20
ms Н-71	5,87	6,17	6,50	5,61	6,04±0,10
ms Н-139	6,14	5,45	6,34	5,87	5,95±0,19
ms Н-283	6,37	5,82	6,31	5,97	6,12±0,13
ms Н-325	6,09	6,15	6,51	6,51	6,31±0,11
ms Н-422	5,18	5,22	6,09	6,11	5,65±0,26
ms Н-451	5,08	5,77	6,47	6,28	5,90±0,31
ms Н-463	5,72	6,25	6,14	5,44	5,86±0,19
ms Н-577	5,10	5,77	6,50	6,33	5,92±0,31
ms Н-649	5,90	6,18	7,23*	6,27	6,39±0,29
ms Н-699	6,10	6,36	6,46	5,95	6,22±0,11
ms Н-700	6,60	5,80	6,93*	6,91*	6,56±0,26
ms Н-732	6,00	6,30	6,37	6,56	6,31±0,11
ms Н-842	6,45	6,67	6,20	5,62	6,23±0,22
ms Н-1051	5,94	5,55	6,38	5,66	5,89±0,18
ms Н-1054	6,42	6,00	6,86*	6,36	6,40±0,17
ms Н-1058-1	5,78	5,82	6,92*	6,46	6,25±0,27
ms Н-1058-2	6,01	5,80	7,02*	6,42	6,31±0,27
ms Н-1074	6,54	6,45	6,73*	5,57	6,32±0,26
ms Н-1099	6,61	5,73	6,49	6,55	6,35±0,20
ms Н-1179	6,92*	6,55	7,22*	7,12*	6,95±0,15
ms Н-1185-1	7,48*	7,36*	6,92*	7,00*	7,19±0,13
ms Н-1185-2	6,90*	7,55*	6,66	6,68	6,95±0,21
ms Н-1190	6,67	5,92	5,86	6,37	6,21±0,19
ms Н-1238	6,55	6,91*	6,55	6,75*	6,69±0,09
ms Н-1247	6,41	6,95*	6,39	6,15	6,48±0,17
ms Н-1276	6,46	6,04	6,18	5,82	6,12±0,13
ms Н-1309	5,71	5,82	6,22	5,65	5,85±0,13
ms Н-1370	6,46	6,36	6,36	6,47	6,41±0,03
Среднее (X_i)	6,19±0,21	6,17±0,10	6,52±0,06	6,19±0,09	6,27±0,07
HCP_{05}		0,75			

*урожайность гибрида достоверно выше стандарта Валдай.

были отобраны относительно продуктивные линии, отличающиеся устойчивым к полеганию стеблем, крупным зерном, устойчивостью к грибным болезням. На базе лучших из них был развернут селекционный конвейер по синтезу межлинейных гибридов F1 на основе ЦМС Пампа типа. Стерильные аналоги инбредных линий получали методом насыщающих скрещиваний, которые выполняли зимой в теплице. Беккроссирование проводили методом парных скрещиваний, для чего под один пергаментный изолятор помещали колосья стерильного и фертильного растения. В качестве источника стерильной цитоплазмы типа Пампа использовали одну из высококостерильных инбредных линий. При каждом беккроссе отбираемые растения визуально проверяли на степень удержания стерильности. Простые межлинейные гибриды получали от скрещивания линий, не имеющих родства с генопулом опылителя. В качестве материнской формы использовали 30 мужски стерильных линий немчиновского генопула, в качестве отцовской – четыре мужски фертильные линии mf Н-1432, mf Н-1423, mf Н-1147 и mf Н-1842, из которых первые две относятся к вятскому генопулу, вторые – к саратовскому. Каждую линию высевали на делянке 5 м², которая опылялась окружающим тестером. Тестовые скрещивания провели в 2019 г. на

изолированных участках по схеме топкросса. В итоге получили 120 межлинейных гибридов F1, полевые испытания которых провели в 2020 г. на делянках 8,0 м² в 2-х кратной повторности при норме высева 500 зерен на 1 м². В качестве стандарта использовали популяционный сорт Валдай. По такой же методике в 2021 г. провели сравнительное испытание 10 инбредных линий ржи, показавших различные эффекты ОКС. Оценивали урожайность, зимостойкость, высоту растений, устойчивость к полеганию, число зерен в колосе, массу 1000 зерен. Уборку проводили в фазе полной спелости малогабаритным комбайном Wintesteiger-Classis. Эффекты ОКС и СКС определяли на основе математической модели, предложенной В.Г. Вольф, и П.П. Литун [26]. Стандартные ошибки и достоверность различий оценивали при уровне вероятности P = 0,95.

Результаты и обсуждение. Средняя урожайность 120 межлинейных гибридов F1 в опыте составила 6,27 т/га (табл. 1), что выше, чем у популяционного сорта-стандарта Валдай, на 0,32 т/га, или 5,4 %. Частота гибридов, показавших достоверно высокий (P > 0,95) конкурсный гетерозис, составила 16,7 % (20 из 120 генотипов). Их урожайность варьировала от 6,75 до 7,55 т/га, что превышает стандарт на 13,4...26,9 %. Максимально высокая в опыте она была у гибридов ms Н-1185-2 × mf Н-1423 (7,55 т/га), ms Н-1185-1 × mf Н-1432 (7,48 т/га), ms Н-1185-1 × mf Н-1423 (7,36 т/га), ms Н-649 × mf Н-1147 (7,23 т/га), ms Н-1179 × mf Н-1147 (7,22 т/га). Наиболее урожайными были генотипы с участием стерильной линии ms Н-1185-1 (7,19 т/га) и тестера mf Н-1147 (6,52 т/га). Очень низкую урожайность (на уровне 5,08...5,18 т/га) отмечали у гибридов от скрещивания линий ms Н-451, ms Н-577, ms Н-31, ms Н-422 с тестером mf Н-1432. При этом генотип материнских линий обуславливал более сильное варьирование гибридов по урожайности, чем генотип тестеров.

Основной причиной варьирования урожайности изучаемых гибридов были различия между их родителями по комбинационной способности (табл. 2). В наших опытах в целом на долю эффектов ОКС приходилось 91,2 % всей изменчивости урожайности гибридов, на долю СКС – 6,9 %. Из этого следует, что основным компонентом генотипической вариации урожайности служит аддитивное действие генов и очень малая доля приходится на доминирование в локусах и эпистаз. Следовательно, эффект гетерозиса по урожайности можно рассматривать как результат аддитивного взаимодействия генов. Поэтому при отборе лучших линий для скрещивания очень важно знать уровень их ОКС. Широкое соотношение вариантов ОКС/СКС указывает на достаточно высокую генетическую дивергенцию изучаемых линий.

Оценка эффектов ОКС стерильных (g_i) и фертильных (g_j) линий показала, что изучаемые линии значительно различались по комбинационной способности (табл. 3). С целью сравнения со средней ОКС рассчитывали ошибку Ed_{gi} и HCP_{05} , которые для стерильных линий были равны 0,09 и 0,18 соответственно, для фертильных тестеров – 0,03 и 0,06. По результатам исследований существенно более высокой ОКС обладали 7 линий: ms

Табл. 2. Дисперсионный анализ комбинационной способности инбредных линий озимой ржи

Источник дисперсии	SS	df	ms ²	F факт.	F ₀₅
ОКС ms линий	15,6	29	0,53	14,3	1,57
ОКС mf линий (тестеров)	4,0	3	1,33	35,9	2,70
СКС	12,6	87	0,14	3,8	1,40
Остаточная	4,4	119	0,04		

Табл. 3. Оценка эффектов ОКС стерильных линий (g_i) и фертильных линий-тестеров (g_j)

Линия	Эффект ОКС	Линия	Эффект ОКС
стерильные	g_i	стерильные	g_i
ms H-31	-0,63	ms H-1074	0,06
ms H-48	0,26*	ms H-1099	0,08
ms H-71	-0,23	ms H-1179	0,69*
ms H-139	-0,31	ms H-1185-1	0,92*
ms H-283	-0,15	ms H-1185-2	0,68*
ms H-325	0,05	ms H-1190	-0,06
ms H-422	-0,62	ms H-1238	0,40*
ms H-451	-0,37	ms H-1247	0,21*
ms H-463	-0,38	ms H-1276	-0,14
ms H-577	-0,35	ms H-1309	-0,42
ms H-649	0,12	ms H-1370	0,15
ms H-699	-0,05	$\Sigma=$	0
ms H-700	0,29*	тестеры	g_j
ms H-732	0,04	mf H-1432	-0,08
ms H-842	-0,04	mf H-1423	-0,09
ms H-1051	-0,38	mf H-1147	0,25*
ms H-1054	0,14	mf H-1842	-0,08
ms H-1058-1	-0,02	$\Sigma=$	0
ms H-1058-2	0,05		

*линия с достоверно высокой ОКС.

H-1185-1, ms H-1185-2, ms H-1179, ms H-1238, ms H-700, ms H-48, ms H-1247. Среди тестеров лучшей оказалась только линия mf H-1147. Достоверно низкую ОКС в изучаемом наборе отмечали у 9 стерильных линий и 3 линий-тестеров. Эффекты ОКС у них были отрицательными, а урожайность гибридов F1 с их участием очень сильно варьировала. Наличие линий с низкой ОКС объясняет почему не всякое скрещивание инбредных линий дает гетерозисное потомство.

Средняя дисперсия эффектов СКС по стерильным линиям составила $\sigma^2_{S_i} = 0,1044$, по тестерам $\sigma^2_{S_j} = 0,0692$ (табл. 4). Сравнивая фактические дисперсии по каждой линии с этими величинами, находим, что в отдельных сочетаниях существенно более высокую СКС продемонстрировали 15 стерильных линий и 2 фертильных тестера, которыми оказались mfH-1432 и mfH-1423. Среди них выделялись линии ms H-451, ms H-577, ms H-842, ms H-1185-2 и ms H-1190, особенность которых состояла в том, что средняя урожайность гибридов с участием линий с высокой ОКС была достоверно выше, чем средняя урожайность гибридов с участием линий с высокой СКС (6,76 т/га против 6,24 т/га, $t_{\text{факт.}} = 3,38 > t_{05} = 2,22$). Важно также, что среди 30 изучаемых линий выявлена только одна (ms H-1185-2), которая сочетала высокие оценки по ОКС и СКС. Не сочетались эти два свойства и у лучшего тестера mf H-1147. Это привносит трудности в селекцию, так как если высокие ОКС и СКС линии не сочетаются, то исключается возможность использовать максимальный эффект гетерозиса в гибридах с ее участием.

Как было отмечено ранее, комбинационная способность – признак, трудно поддающийся измерению. В

этой связи особый интерес представляет поиск признаков, тесно коррелирующих с эффектами ОКС и СКС. Давно отмечено [1], что важным фенотипическим ориентиром в селекции инбредных линий ржи служит уровень их собственной продуктивности. У ржи существует взаимосвязь между продуктивностью родительских форм и гибридов F1 [12]. Наиболее тесные генотипические корреляции отмечены для высоты растения, массы 1000 зерен, числа падения и содержания крахмала [20]. Считается, что такая взаимосвязь может способствовать сокращению затрат на полевые испытания тесткроссов. Однако по другим данным [19] высокая продуктивность линий не всегда служит показателем наивысшей продуктивности их гибридов. Поэтому в программах селекции гибридной ржи необходимо проводить испытание тесткроссов.

Результаты оценки двух групп линий с плюс и минус эффектами ОКС в нашем исследовании свидетельствуют (табл. 5), что стерильные линии с высокой ОКС, в сравнении с линиями с низкой ОКС, отличались достоверно большей урожайностью и были более высокорослыми. Выявлена положительная корреляция между эффек-

Табл. 4. Оценка эффектов СКС ms линий и mf тестеров

Стерильная линия	Линия тестер				Σs^2_{ij}	$\sigma^2_{S_i}$
	mf H-1432	mf H-1423	mf H-1147	mf H-1842		
ms H-31	-0,40	0,40	0,21	-0,21	0,4082	0,1113*
ms H-48	0,52	0,10	-0,17	-0,45	0,5118	0,1459*
ms H-71	-0,08	0,23	0,21	-0,36	0,2330	0,0530
ms H-139	0,28	-0,41	0,14	-0,01	0,2662	0,0640
ms H-283	0,32	-0,20	-0,05	-0,07	0,1498	0,0252
ms H-325	-0,15	-0,07	-0,05	0,27	0,1028	0,0096
ms H-422	-0,38	-0,34	0,20	0,52	0,5704	0,1654*
ms H-451	-0,73	-0,03	0,31	0,45	0,8324	0,2528*
ms H-463	-0,08	0,45	0,01	-0,38	0,3534	0,0931
ms H-577	-0,73	-0,06	0,32	0,47	0,8598	0,2619*
ms H-649	-0,42	-0,10	0,57	-0,05	0,5138	0,1466*
ms H-699	-0,04	0,25	-0,01	-0,20	0,1042	0,0110
ms H-700	0,12	-0,69	0,12	0,45	0,7074	0,0112
ms H-732	-0,23	0,09	-0,18	0,32	0,1958	0,0406
ms H-842	0,29	0,52	-0,29	-0,53	0,7195	0,2151*
ms H-1051	0,14	-0,24	0,24	-0,14	0,1544	0,0267
ms H-1054	0,09	-0,31	0,21	0,01	0,1484	0,0248
ms H-1058-1	-0,38	-0,34	0,42	0,30	0,5264	0,1508*
ms H-1058-2	-0,23	-0,42	0,47	0,18	0,4826	0,1362*
ms H-1074	0,30	0,23	0,16	-0,69	0,6446	0,1902*
ms H-1099	0,35	-0,53	-0,10	0,28	0,4918	0,1392*
ms H-1179	0,05	-0,31	0,02	0,24	0,1566	0,0275
ms H-1185-1	0,38	0,26	-0,52	-0,12	0,4968	0,1409*
ms H-1185-2	0,05	0,69	-0,54	-0,20	0,8102	0,2478*
ms H-1190	0,54	-0,18	-0,59	0,23	0,7250	0,2170*
ms H-1238	-0,14	0,22	-0,14	0,06	0,0912	0,0057
ms H-1247	0,03	0,56	-0,34	-0,25	0,4926	0,1395*
ms H-1276	0,41	0,01	-0,19	-0,23	0,2572	0,061
ms H-1309	-0,07	0,07	0,12	-0,12	0,0386	0,0011
ms H-1370	0,12	0,06	-0,30	0,12	0,1224	0,0161
Σs^2_{ij}	3,2725	3,4079	2,5570	2,9299	–	–
$\sigma^2_{S_j}$	0,0771*	0,0818*	0,0525	0,0653	–	–

Средняя $\sigma^2_{S_i} = 0,1044$, средняя $\sigma^2_{S_j} = 0,0692$

*линия с достоверно высокой СКС.

Табл. 5. Морфо-биологическая оценка инбредных линий ржи с различными эффектами ОКС (2021)

Линия	Эффекты ОКС	Урожайность, т/га	Высота растений, см	Зимостойкость, %	Устойчивость к полеганию, балл	Число зерен в колосе, шт.	Масса 1000 зерен, г
Линии с высокой ОКС							
ms H-1185-1	0,92	3,30	122	42,6	9	52,6	25,6
ms H-1185-2	0,68	4,73	120	70,07	9	45,6	28,0
ms H-1247	0,21	4,36	130	47,9	8	52,2	26,4
ms H-649	0,22	3,70	128	41,1	8,5	45,7	27,0
ms H-1054	0,14	4,07	130	34,4	7,5	49,3	23,8
Среднее	0,43	4,03±0,25*	126,0±2,1*	47,3±6,2	8,4±0,3	49,2±1,5	26,2±0,7
Линии с низкой ОКС							
ms H-451	-0,37	1,94	110	19,9	9	40,8	24,2
ms H-577	-0,35	2,44	105	21,3	9	41,6	22,8
ms H-422	-0,62	3,66	115	51,7	8,5	53,6	27,0
ms H-1309	-0,42	2,85	125	55,6	7,0	42,0	27,2
ms H-842	-0,04	2,76	120	55,9	9	50,3	19,6
Среднее	-0,36	2,73±0,28	115,0±3,5	40,9±8,3	8,5±0,4	45,8±2,6	24,2±1,4

*различия между средними достоверны при 5 %-ном уровне значимости

тами ОКС линий и уровнем их урожайности ($r=0,59$, $t_{факт}=2,30 > t_{0,05}=2,22$). По другим признакам групповые различия были недостоверны, однако следует отметить заметный тренд таких линий в сторону лучшей зимостойкости, озерненности колоса и массы 1000 зерен. В более ранних наших исследованиях [17], корреляция между этими признаками с эффектами ОКС была статистически достоверной. Анализируя эту зависимость, важно отметить, что положительная корреляция между оценками ОКС и высотой растений нежелательна, так как длинностебельные гибриды будут полегать. В то же время эту проблему можно решить, если проводить интенсивную селекцию на сочетание короткостебельности и крупнозерности. Эти признаки имеют высокий коэффициент наследуемости и отбор по ним позволит увереннее прогнозировать лучшие межлинейные гибриды. Этот тезис подтверждают результаты многолетней гибридной селекции ржи в Германии, где в результате интенсивной селекции современные самоопыленные линии ржи превосходят по продуктивности первые инбредные формы в 5...8 раз [22]. Именно благодаря такому селекционному улучшению родительских форм современные гибриды ржи достигли уровня потенциальной урожайности гибридов кукурузы и сортов пшеницы.

Выводы. Таким образом, оценка инбредных линий озимой ржи в топкроссных скрещиваниях – эффективный метод ранней диагностики их комбинационной способности. Этот метод позволяет объективно выделить перспективные линии и четко дифференцировать их по уровню ОКС и СКС. В результате испытания 120 топкроссных гибридов F1 выделено 20 комбинаций, которые превзошли стандарт Валдай на 13,4...26,9 %. Наиболее урожайными были гибриды с участием линии ms H-1185-1 и тестера mf H-1147. Достоверно более низкой она была у гибридов от скрещивания линий ms H-451, ms H-577, ms H-31, ms H-422 с тестером mf H-1432. Существенно более высокая ОКС отмечена у 7 линий, а среди тестеров лучшей оказалась mf H-1147. Достоверно меньшую ОКС зафиксировали у 9 стерильных линий и 3 линий-тестеров. Эффекты ОКС у них были отрицательными, а урожайность гибридов F1 с их участием сильно варьировала. Существенно более высокую СКС продемонстрировали 15 стерильных линий и 2 фертильных тестера. Среди них выявлена только одна (ms H-1185-2), которая сочетала высокие

оценки не только по ОКС, но и по СКС. Характерная особенность изучаемых линий заключается в широком соотношении вариантов ОКС/СКС, что указывает на их достаточно высокую генетическую дивергенцию. Важно то, что линии с высокими оценками по ОКС достоверно отличаются более высокой собственной урожайностью и высокорослостью, в сравнении с низкой ОКС. Из этого следует, что селекционное улучшение линий необходимо проводить в направлении сочетания у них короткостебельности и крупнозерности. Эти признаки имеют высокий коэффициент наследуемости и отбор инбредных линий с высокой степенью их выраженности позволит относительно надежно прогнозировать получение высокогетерозисных гибридов.

Литература

1. Geiger H.H. *Strategies of Hybrid Rye Breeding // Vortr. Pflanzenzuchtung. 2007. Vol. 41. P.1-5.*
2. Sprague G.F., Tatum L.G. *General and specific combining ability in single crosses of corn // J. Amer. Soc. Agron. 1942. Vol. 34. P. 923-932.*
3. Савченко В.К. *Генетический анализ в сетевых пробных скрещиваниях. Минск: Наука и техника, 1984. 225 с.*
4. Хотылева Л.В., Тарутина Л.А. *Генетика гетерозиса // Генетические основы селекции растений. Минск: Белорусская наука, 2008. Т. 1. С. 81-136.*
5. Кильчевский А.В., Хотылева Л.В., Тарутина Л.А., Шантуренко М.Н. *Гетерозис в селекции сельскохозяйственных растений // Молекулярная и прикладная генетика. 2008. Т.8. С.7-24.*
6. Geiger H.H., Miedaner T. *Rye Breeding // Cereals. (Handbook of Plant Breeding). New York: Springer Science+Business Media LLC, 2009. Vol. 3. P. 157-181.*
7. *Комбинационная способность стерильных линий озимой ржи в системе топкроссных скрещиваний / В.Д. Кобылянский, Н.С. Лапиков, А.Г. Катерова и др. // Научно-технический бюллетень ВИР. Л.: Сельхозгиз. 1987. Вып. 69. С.3-8.*
8. Худоерко В.И., Панченко И.А. *Проявление гетерозиса у озимой ржи // Научно-технический бюллетень ВИР. Л.: Сельхозгиз. 1975. Вып. 48. С. 38-41.*
9. Morgenstern K., Geiger H.H. *General and specific combining ability in testcrosses between inbred lines of rye // Hodowla Rosl. Aklimat. Nasienn. 1975. Vol. 19. No. 5/6. P. 386-390.*

10. Особенности проявления эффекта гетерозиса у гибридов F1 озимой ржи (*Secale cereale* L.) по элементам продуктивности / В.Е. Шимко, С.И. Гордей, И.А. Гордей и др. // Проблемы и пути повышения эффективности растениеводства в Беларуси. Минск: НПЦ НАН Беларуси по земледелию, 2007. С.24-27.
11. Пономарева М.Л., Пономарев С.Н. Научные основы селекции озимой ржи. Казань: Изд-во ФЭН, 2019. 352 с.
12. Деревянко В.П., Егоров Д.К. Актуальные вопросы гетерозисной селекции озимой ржи. Харьков: Институт растениеводства им. В.Я.Юрьева. 2008. 152 с.
13. Genetic architecture of plant height in winter rye introgression libraries / T. Miedaner, B.U. Muller, H.-P. Piepho, et al. // Plant Breed. 2011. Vol. 130. No. 2. P. 209-216.
14. Соколов Б.П., Костюченко В.И. К вопросу выбора тестеров для оценки комбинационной способности линий кукурузы в топкроссах // Сельскохозяйственная биология. 1978. Т. 13. № 1. С. 44-48.
15. Гончаренко А.А. Актуальные вопросы селекции озимой ржи. М.: ФГБНУ Росинформагротех. 2014. 372 с.
16. Изучение комбинационной способности инбредных линий озимой ржи по методу топкросса / А.А. Гончаренко, С.А. Ермаков, А.В. Макаров и др. // Зерновое хозяйство России. 2017. №5. С. 5-12.
17. Селекция инбредных линий озимой ржи на общую и специфическую комбинационную способность и ее связь с селекционными признаками / А.А. Гончаренко, С.А. Ермаков, А.В. Макаров и др. // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54. №1. С. 88-92.
18. Reif J.C., Hahn V., Melchinger A.E. Genetic basis of heterosis and prediction of hybrid performance // *Helia*. 2012. Vol. 35, No. 57. P. 1-8. URL: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.2298/hel1257001r/html> (дата обращения: 10.04.2022).
19. Association between line per se and testcross performance for eight agronomic and quality traits in winter rye / T. Miedaner, D.D. Schwegler, P. Wilde, et al. // *Theoretical and Applied Genetics*. 2014. Vol. 127. No. 1. P. 33-41.
20. Correlation between per se and Testcross Performance in Rye (*Secale cereale* L.) Introgression Lines Estimated with a Bivariate Mixed Linear Model / K.C. Falke, P. Wilde, H. Wortmann, et al. // *Crop Science*. 2010. Vol. 50. No.5. P. 1863-1873.
21. Miedaner T., Geiger H.H. Estimates of combining ability for resistance of winter rye to *Fusarium culmorum* Head Blight // *Euphytica*. 1996. Vol. 89. No. 3. P. 339-344.
22. Genome-wide association mapping and genomic prediction of *Fusarium* head blight resistance, heading stage and plant height in winter rye (*Secale cereale*) / D.S. Gaikpa, S. Koch, F.J. Fromme, et al. // *Plant Breed.* 2020. Vol. 139. No. 3. P.508-520.
23. Гордей И.А., Гордей С.И., Урбан Э.П. Генетические основы селекции гибридных сортов ржи (*Secale cereale* L.) // Молекулярная и прикладная генетика. 2008. Т.8. С. 40-52.
24. Пенева Т.И., Мартыненко Н.М., Кобылянский В.Д. Использование спектров секалина для прогнозирования гетерозиса в селекции // III Вавиловская международная конференция «Идеи Н.И.Вавилова в современном мире». С-Пб.: ВИР, 2012. С. 380.
25. Combining ability of parental genotypes of winter rye / I. Kolasinska, W. Brukwiriski, J. Jagodzinski, et al. // *Biul. Inst. Hodowli Aklimat. Rosl.* 2011. No. 260-261. P. 241-249.
26. Вольф В.Г., Литун П.П. Методические рекомендации по применению математических методов для анализа экспериментальных данных по изучению комбинационной способности. Харьков: УНИИРСиГ им. В.Я.Юрьева, 1980. 75 с.
27. Genetic gain from hybrid rye breeding: achievements and challenges / P. Wilde, P. Bajgain, P. Dopierala, et al. // *Intern. Conference on Rye Breeding and Genetics*. Wroclaw: 2015. P. 20-21.

Поступила в редакцию 20.08.2022

После доработки 25.09.2022

Принята к публикации 30.11.2022

ВЛИЯНИЕ МЕТЕЛОК, СФОРМИРОВАННЫХ НА ПОБЕГАХ РАЗНОГО ПОРЯДКА, НА АНДРОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОТВЕТЫ *in vitro* РИСА *Oryza sativa* L.

М.В. Илюшко, кандидат биологических наук, М.В. Ромашова, кандидат сельскохозяйственных наук, С.С. Гученко

Федеральный научный центр агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки,
692539, Приморский край, пос. Тимирязевский, ул. Воложенина, 30
E-mail: ilyushkoiris@mail.ru

Исследования проводили с целью сравнительного анализа отзывчивости пыльников с метелок, расположенных на главных и боковых побегах риса *Oryza sativa* L., в андрогенезе *in vitro* на растениях F_1 двух гибридных комбинаций для увеличения числа культивируемых пыльников в течение сезона. Растения доноры выращивали на вегетационной площадке в металлических сосудах, наполненных почвой. Главную метелку использовали с трех растений гибрида $L \times 3P$ и одного растения гибрида $K \times 3P$, по одной боковой метелке срезали с шести растений $L \times 3P$ и трех растений $K \times 3P$. Число генотипов рассчитывали, как произведение числа каллусов с удвоенными гаплоидами на 1,25. В культуру *in vitro* введено 2050 пыльников. По интенсивности каллусообразования, числу зеленых регенерантов на каллус и доле удвоенных гаплоидов статистически значимых различий между главными и боковыми метелками в комбинации $L \times 3P$ не выявлено. Всего получено 215 линий удвоенных гаплоидов 29 генотипов, чего теоретически достаточно для выведения нового сорта. Из гибридной комбинации $K \times 3P$ получено 120 удвоенных гаплоидов 5 генотипов с одного растения донора с главной метелкой. Статистически значимые различия между главными и боковыми метелками отсутствовали. Использование боковых метелок риса дает возможность распределить трудозатраты во времени и увеличить общий объем культивируемых *in vitro* пыльников и, в конечном счете, число и варибельность удвоенных гаплоидов одного образца. При отсутствии временных и прочих ограничений предпочтительней главные метелки.

PANICLE FORMATION ORDER INFLUENCE IN RICE *Oryza sativa* L. *in vitro* ANDROGENESIS

M.V. Ilyushko, M.V. Romashova, S.S. Guchenko

Federal Scientific Centre of Agrobiotechnology of the Far East named A.K. Chaika, 692539,
Primorskiy kray, pos. Timiryasevskiy, ul. Volozhenina, 30
E-mail: ilyushkoiris@mail.ru

A comparative analysis of rice *Oryza sativa* L. main and lateral panicles in androgenesis *in vitro* on F_1 plants of two hybrid combinations: $L \times 3P$ and $K \times 3P$ to increase the number of cultivated anthers during the season was carried out. Donor plants were grown on the growing area in metal vessels filled with soil. The main panicle was used from three $L \times 3P$ hybrids and one $K \times 3P$ hybrid, single lateral panicle was cut from six $L \times 3P$ plants and three $K \times 3P$ plants. The genotypes number was calculated as the product of the calli number with doubled haploids by 1.25. *In vitro* culture 2050 anthers were introduced. According to the intensity of callus formation, the number of green regenerants per callus, and the doubled haploids proportion, there were no statistically significant differences between the main and lateral panicles in the $L \times 3P$ combination. In total, 215 doubled haploids lines of twenty nine genotypes were obtained, which is theoretically sufficient for breeding a new variety. On the hybrid combination $K \times 3P$, 120 doubled haploids of five genotypes were formed from one donor plant with the main panicle. There were no statistically significant differences between the main and lateral panicles. It is concluded that it is expedient to use lateral rice panicles *in vitro* androgenesis to create the initial breeding material. Their use makes it possible to distribute labor force over time and increase the total volume of anthers cultivated *in vitro*, and, ultimately, the doubled haploids number and variability of one sample. In the time absence and other restrictions, it is preferable to use the main panicle.

Ключевые слова: *Oryza sativa*, андрогенез *in vitro*, главная и боковая метелки, удвоенные гаплоиды

Key words: *Oryza sativa*, *in vitro* androgenesis, main and lateral panicles, doubled haploids

Андрогенез *in vitro* (культура пыльников или микроспор *in vitro*) – один из ведущих методов создания исходного материала в современной селекции сельскохозяйственных растений, позволяющий ускорить перевод гетерозиготных гибридов в гомозиготные линии (удвоенные гаплоиды – *doubled haploids*, *DH*) за одно поколение [1, 2]. Для риса разработан ряд протоколов создания удвоенных гаплоидов, основанный исключительно на культуре пыльников *in vitro* [3, 4, 5]. В результате их использования отмечен значительный селекционный успех в различных рисосеющих странах [3, 4].

Ключевые факторы эффективного андрогенетического ответа – генотип растения донора, благоприятные условия выращивания, стадия микроспор незрелого пыльника и его шоковая предобработка до введения в культуру *in vitro*, условия культивирования пыльников, каллусов и регенерантов [3, 6, 7]. Есть немногочисленные сведения о преимуществе главной метелки (или колоса) в культуре пыльников *in vitro* злаковых культур

над второстепенными [6, 8]. В целом считают, что физиологическое состояние растений доноров оказывают значительное влияние на андрогенетические ответы *in vitro*, и главный побег, как наиболее крупный и сильный, наиболее отзывчив в культуре пыльников [3, 6, 7].

Получение растений доноров для культивирования пыльников *in vitro* возможно в контролируемых условиях, но преимущество имеют растения из естественных условий [3, 7]. При использовании большого количества гибридов, посев следует проводить в несколько сроков, чтобы расширить временные рамки введения пыльников в культуру. Однако при выращивании риса на северной границе ареала его возделывания с ограниченным количеством тепла семена гибридов могут не вызреть. Андрогенетические ответы *in vitro* в значительной степени зависят от генотипа, часто они бывают отрицательными [2, 3, 9], отсутствуют гарантии получения удвоенных гаплоидов из гибридов первого поколения, поэтому селекционеры используют гибриды второго поколения

Табл. 1. Число пыльников риса *Oryza sativa* L., введенных в культуру *in vitro*

Номер гибрида	Число пыльников, шт.	Порядок формирования метелки
Луговой×[(Дарий 8×Хаяюки)×Славутич]		
1	194	боковая
2	50	боковая
3	122	главная
4	50	главная
5	246	боковая
6	198	боковая
7	78	боковая
8	190	боковая
9	176	главная
Каскад×[(Дарий 8×Хаяюки)×Славутич]		
1	184	боковая
2	194	боковая
3	208	главная
4	168	боковая

[5, 8, 10], а селекцию трудно культивируемых *in vitro* генотипов ведут традиционным способом. Таким образом, после срезания побега с растения донора необходимо собрать полноценные семена в качестве страхового фонда. В период массового введения пыльников в культуру *in vitro* в отдельных случаях главный побег не удастся использовать. При этом рис формирует несколько боковых метелок меньшего размера.

Цель исследования – сравнение андрогенетических ответов *in vitro* главной и боковой метелок гибридов риса *Oryza sativa* L. для увеличения числа культивируемых пыльников в течение сезона.

Методика. В исследовании использовали гибриды F₁ риса *Oryza sativa* L.: девять растений гибридной комбинации Луговой×[(Дарий 8×Хаяюки)×Славутич] – Л×ЗР и четыре растения комбинации Каскад×[(Дарий 8×Хаяюки)×Славутич] – К×ЗР. Гибриды выращивали в 2020 г. на вегетационной площадке ФНЦ агроботехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки в металлических сосудах, наполненных почвой. Температурный фон в мае составил 12,8 °С, в июне – 17,2 °С, в июле – 20,8 °С, в августе – 22 °С, что на 0,7...1,8 °С выше среднегодовой нормы. Для введения пыльников в культуру *in vitro* с трех растений комбинации Л×ЗР использовали главную метелку, на шести срезали по одной боковой метелке. В гибридной комбинации К×ЗР у одного растения взята главная метелка, у остальных боковые. О готовности метелки к использованию судили по морфологическим маркерам: расстояние между флаговым и подфлаговым листьями – 5...7 см, что у риса соответствует поздней одноядерной стадии развития микроспоры [2]. Введение пыльников в культуру осуществляли в конце июля–начале августа.

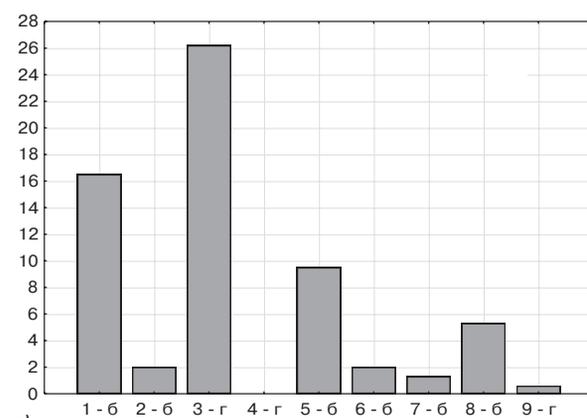
Порядок предобработки и инокуляции пыльников, условия культивирования каллусов и регенерантов приведены в работе [11]. Выбор метелки (главная или боковая) зависел от физической возможности оператора ввести пыльники культуру *in vitro* (400...450 шт. в день). Для оценки различий средних значений использовали непараметрический критерий Ван дер Вардена (X), применимый для малых выборок [12, 13]. Число генотипов

рассчитывали как произведение числа каллусов с ДН на 1,25, согласно показателю внутрикаллусного генетического разнообразия риса [14].

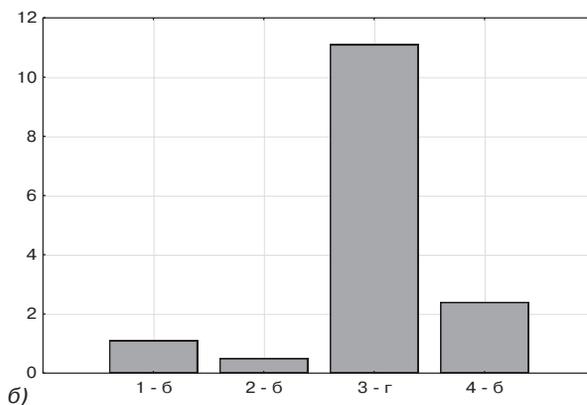
Результаты и обсуждение. По каждому гибриду на питательную среду инокулировано от 50 до 274 асептических чистых пыльников риса (всего 2050 шт.), из них 520 шт. с главных метелок и 1530 шт. с боковых метелок (табл. 1).

Каллусообразование с боковых метелок варьировало от 0 до 16,5 %, с главных метелок – от 0 до 26,2% (см. рисунок). Достоверные различия по величине этого показателя между главными и боковыми метелками не подтверждены: в гибридной комбинации Л×ЗР $X_{\phi}=0,84$, $X_{05}=2,4$, в комбинации К×ЗР – $X_{\phi}=0,84$, $X_{05}=2,3$ (табл. 2).

Среднее число зеленых регенерантов в расчете на каллус на боковых метелках в комбинации Л×ЗР было больше, чем на главных, в 4 раза. Ранее было отмечено, что в отдельных случаях на каллусной линии может сформироваться больше сотни регенерантов [15]. На единственной каллусной линии гибрида Л×ЗР №2 образовалось 131 растение (гаплоиды и удвоенные гаплоиды), что привело к значительному увеличению среднего показателя регенерации из пыльников боковых метелок. В комбинации К×ЗР множественная регенерация отмечена только на гибриде с использованием главной метелки – 120 растений на четырех каллусных линиях. У одного растения К×ЗР (№1) наблюдали морфогенетический ответ с боковой метелки – семь растений, которые погибли на стадии 3...4 листьев.



а)



б)

Каллусообразование (%) в андрогенезе *in vitro* риса *Oryza sativa* L.: а – девяти растений гибридной комбинации Луговой×[(Дарий 8×Хаяюки)×Славутич]; б – четырех растений гибридной комбинации Каскад×[(Дарий 8×Хаяюки)×Славутич] (цифрами обозначены номера растений, буквами порядок формирования метелки – г – главная, б – боковая).

Табл. 2. Андрогенетические ответы *in vitro* метелок побегов разного порядка гибридов риса *Oryza sativa* L.

Среднее значение показателя	Порядок формирования метелки		Х-критерий Ван дер Вардена	
	главная	боковая	X_{ϕ}	X_{05}
Луговой×(Дарий 8×Хаяюки)×Славутич				
Каллусообразование, %	8,9	6,1	0,84	2,4
Число зеленых регенерантов на каллус, шт.	5,7	24,9	0,32	2,3
Доля удвоенных гаплоидов, %	38,8	17,6	0,25	2,3
Каскад×(Дарий 8×Хаяюки)×Славутич				
Каллусообразование, %	11,1	1,3	0,84	2,4
Число зеленых регенерантов на каллус, шт.	27,0	0	0,84	2,4
Доля удвоенных гаплоидов, %	22,5	0	0,84	2,4

Доля удвоенных гаплоидов от боковых метелок варьировала в пределах от 0 до 34,2 %, от главных метелок – от 0 до 38,8 %. Различия между средними значениями ДН на главной и боковых метелках в комбинации Л×ЗР статистически не значимы (см. табл. 2). В гибридной комбинации К×ЗР единственное исходное растение, у которого регенеранты выросли до стадии цветения и созрели (использованы пыльники с главной метелки), образовало 22,5 % удвоенных гаплоидов. Отсутствие статистически значимых различий между показателями главной и боковой метелок указывает на то, что в гаплоидной селекции они равнозначны для использования в андрогенезе *in vitro*. Свидетельства о том, что у злаковых культур важно использовать главную метелку [6, 7, 8] скорее связаны с условиями произрастания, так как они детерминируют физиологические процессы растений доноров [6]. На андрогенетические ответы оказывают влияние различные факторы, воздействующие на исходные растения [6]. В естественных условиях возможны колебания в теплообеспеченности гибридов в фазе выхода в трубку и выметывания более чем на 10 °С, а приход циклонов и тайфунов изменяет инсоляцию. В год проведения эксперимента резких колебаний метеоусловий в период выращивания растений доноров на вегетационной площадке, особенно в критические стадии, не наблюдали, поэтому пыльники главных и боковых метелок в андрогенезе *in vitro* риса проявились одинаково.

Кроме того, число колосков соцветий главных и боковых стеблей многих зерновых (пшеница, ячмень, овес) сильно различаются. У риса боковые метелки часто не уступают главному соцветию по числу колосков, что дает возможность для их использования в культуре пыльников *in vitro*. Важно, чтобы микроспоры в пыльниках находились в поздней одноядерной стадии развития, когда они морфологически компетентны к переключению программы развития с гаметофитной на спорофитную [7, 16]. Для гибридной комбинации К×ЗР характерны низкие значения андрогенетических ответов уже на начальной стадии: каллусообразование на главной метелке 11,1 %, на боковых метелках – 1,33 %, что в среднем ниже, чем в гибридной комбинации Л×ЗР, в 2 раза. Учитывая большие различия по величине этого показателя между гибридными комбинациями, очевидна закономерность влияния генотипа в

эксперименте. Попытки оптимизировать протоколы получения ДН, как правило, позволяют улучшить андрогенетические ответы для некоторых сортов или гибридов, но всегда находятся генотипы с отрицательным результатом [2, 17, 18].

В абсолютных значениях в сумме с главных метелок было получено 169 ДН, с боковых – 73 удвоенных гаплоида по обоим гибридным комбинациям. Низкая внутрикалусная генетическая изменчивость свидетельствует о тиражировании одного или небольшого числа генотипов растений с одного пыльника. В отдельных случаях на одной каллусной линии клонируется до нескольких десятков ДН [15], и только 25 % каллусов вариабельны [14]. С учетом внутрикалусной генетической изменчивости образовалось примерно равное число генотипов (16 с главных метелок и 18 с боковых), однако пыльников на боковых побегах использовали в 3 раза больше. С другой стороны, именно на главной метелке растения №4 в комбинации Л×ЗР каллусообразование отсутствовало (см. рисунок), подтверждая генотипическую зависимость андрогенетических ответов *in vitro* [2, 9, 19] даже в пределах одной гибридной комбинации с использованием лучшего экспланта – пыльников главной метелки. Вовлечение боковых метелок позволило инициировать больше морфогенных каллусов и, как следствие, увеличить генотипическое разнообразие ДН вдвое, по сравнению с применением исключительно главных метелок.

Для выведения сорта риса с использованием гаплоидных технологий достаточно 100...150 ДН одного образца [2, 20] без учета их принадлежности к каллусным линиям. Есть пример селекционного успеха на основе 17 линий ДН [2]. В нашем эксперименте образовалось 215 линий удвоенных гаплоидов 29 генотипов (расчетное число) гибридной комбинации Л×ЗР, что теоретически может привести к созданию нового сорта риса.

Выводы. Результаты исследований свидетельствуют о целесообразности использования боковых метелок некоторых гибридов риса в культуре пыльников *in vitro* для генерации исходного селекционного материала. Это позволяет перераспределить трудозатраты во времени и увеличить общий объем культивируемых *in vitro* пыльников и, в конечном счете, число и вариабельность удвоенных гаплоидов одного образца. При отсутствии временных и прочих ограничений предпочтительней использовать главную метелку.

Литература

1. Сельдимирова О.А., Титова Г.Е., Круглова Н.Н. Комплексный морфолого-гистологический подход к изучению морфогенных структур в культуре *in vitro* пыльников пшеницы // Известия РАН. Серия биологическая. 2016. № 2. С. 155-161. doi: 10.7868/S0002332916020089.
2. Study of androgenic plant families of alloplasmic introgression lines (*H. vulgare*) – *T. aestivum* and the use of sister DH lines in breeding / L. Pershina, N. Trubacheeva, E. Badaeva, et al. // Plants. 2020. Vol. 9. URL: <https://pdfs.semanticscholar.org/0f17/6f055840695843ec653ebe8584cfaf14eb2f.pdf>. (дата обращения: 16.03.2022). doi: 10.3390/plants9060764.
3. Tripathy S.K. High-throughput doubled haploid production for indica rice breeding / ed. J.M. Segui-Simarro // Doubled haploid technology. Methods molecular biology. New York: Humana, 2021. Vol. 2287. P. 343-363. doi: 10.1007/978-1-0716-315-3_20.
4. Goncharova Y.K., Vereshchagina S.A., Gontcharov S.V. Nutrient media for double haploid production in anther

- culture of rice hybrids // *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*. 2020. Vol. 20. No. 23-24, P. 1215-1223.
5. Hooghvorst I., Ferreres I., Nogues S. Anther culture and chromosome doubling in Mediterranean japonica rice / ed. J.M. Segui-Simarro // *Doubled haploid technology. Methods in molecular biology*. New York: Humana, 2021. Vol. 2287. P. 333-341. doi: 10.1007/978-1-0716-315-3_19.
 6. Haploids: constraints and opportunities in plant breeding / S.L. Dwivedi, A.B. Brite, L. Tripathi, et al. // *Biotechnology Advances*. 2015. Vol. 33. № 6. P. 812-829. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.07.001.
 7. High-frequency androgenic green plant regeneration in indica rice for accelerated breeding / S. Samantaray, B. Dash, S.S. Bhuyan, et al. / eds. S.S. Gosal, S.H. Wani. *Accelerated plant Breeding*. 2020. Vol. 1. Springer, Cham. URL: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-030-41866-3.pdf> (дата обращения: 16.03.2022). doi: 10.1007/978-3-030-41866-3_10.
 8. Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation // *Plant Biotechnology Journal*. 2010. Vol. 8. P. 377-424. doi: 10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x
 9. Niazian M., Shariatpanahi M.E. In vitro-based doubled haploid production: recent improvements // *Euphatica*. 2020. Vol. 216. Article 69. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10681-020-02609-7> (дата обращения: 01.02.2022). doi: 10.1007/s10681-020-02609-7.
 10. Murovec J., Bohanec B. Haploids and doubled haploids in plant breeding / ed. I. Abdurakhmonov. *Plant breeding*. 2012. P. 87-106. URL: <https://www.intechopen.com/chapters/25554> (дата обращения 16.03.2022). doi: 10.5772/29982.
 11. Илюшко М.В., Скапцов М.В., Ромашова М.В. Содержание ядерной ДНК у регенерантов риса (*Oryza sativa* L.), полученных в культуре пыльников *in vitro* // *Сельскохозяйственная биология*. 2018. Т. 53. № 3. С. 531-538. doi: 10.15389/agrobiology.2018.3.531rus.
 12. Ван дер Варден Б.Л. *Математическая статистика / пер. с нем.* М.: Иностранная литература, 1960. 450 с.
 13. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. М.: Высш. Школа, 1980. 293 с.
 14. Ilyushko M.V., Romashova M.V., Guchenko S.S. Intra-callus genetic variability of rice *Oryza sativa* L. doubled haploids regenerated through androgenesis *in vitro* / eds. A. Muratov, S. Ignateva. *Fundamental and applied scientific research in the development of agriculture in the Far East (AFE-2021). Lecture Notes in Networks and Systems*. Cham.: Springer, 2022. Vol. 353. P. 9-18. doi: 10.1007/978-3-030-91402-8_2.
 15. Илюшко М.В. Регенерационный максимум в андрогенных каллусных линиях риса *Oryza sativa* L. *in vitro* // *Рисоводство*. 2019. № 2(43). С. 29-32.
 16. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Андроклинический эмбриоогенез *in vitro* злаков // *Успехи современной биологии*. 2014. Т. 134. № 5. С. 476-487.
 17. Antimitotic and hormone effects on green double haploid plant production through anther culture of Mediterranean japonica rice / I. Hooghvorst, E. Ramos-Fuentes, C. Lopez-Cristofannini, et al. // *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 2018. Vol. 134. P. 205-215. doi: 10.1007/s11240-018-1413-x.
 18. Callus induction and regeneration from anther cultures of Indonesian indica black rice cultivar / A. Maharani, W.I.D. Fanata, F.N. Laeli, et al. // *J. Crop Sci. Biotech.* 2020. Vol. 23. No. 1. P. 21-28. doi: 10.1007/s12892-019-0322-0.
 19. Exploring factors affecting anther culture in rice (*Oryza sativa* L.) / S.K. Tripathy, D. Swain, P.M. Mohapatra, et al. // *Journal of Applied Biology and Biotechnology*. 2019. Vol. 7(02). P. 87-92. doi: 10.7324/JABB.2019.70216.
 20. Sarao N.K., Gosal S.S. *In vitro* androgenesis for accelerated breeding in rice / eds. S.S. Gosal, S.H. Wani // *Biotechnologies of crop improvement*. Cham.: Springer, 2018. Vol. 1. P. 407-435. doi: 10.1007/978-3-319-78283-6_12.

Поступила в редакцию 02.02.2022

После доработки 26.09.2022

Принята к публикации 29.11.2022

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ РАСТЕНИЙ ЛАВАНДЫ УЗКОЛИСТНОЙ (*Lavandula angustifolia* Mill.) ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ КЛОНАЛЬНОМ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ*

С. С. Бабанина, кандидат сельскохозяйственных наук, Н. А. Егорова, доктор биологических наук, И. В. Ставцева, кандидат сельскохозяйственных наук, С. Ф. Абдурашитов, кандидат биологических наук

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,
295453, Республика Крым, Симферополь, ул. Киевская, 150
E-mail: svetlana.babanina@bk.ru

*Цель исследования – оценить генетическую стабильность сортов лаванды при длительном клональном микроразмножении с использованием RAPD и ISSR маркеров. Материалом для исследования служили три сорта лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) крымской селекции – Вдала, Синева, Степная. Биологическими объектами были исходные выращенные в фитоблоке донорные растения, а также микропобеги после 6 и 16 субкультивирований при размножении *in vitro*. В работе использовали 2 RAPD (OPA 10, OPO 13) и 4 ISSR праймера (HB 13, HB 15, ISSR 1, ISSR 2, ISSR 3). У изученных сортов по основным морфометрическим параметрам развития экплантов (количество и длина побегов, число узлов на побегах и коэффициент размножения) достоверных различий после 6 и 16 субкультивирований не выявлено. По морфологии микропобеги всех изученных сортов после разных сроков культивирования между собой так же не отличались. С использованием 7 маркеров идентифицировано наличие 62 локусов. Все праймеры, используемые в работе, были полиморфны (41,7...88,9%), а продукты амплификации надежно идентифицировали выбранные для исследования сорта лаванды. Длина амплифицированных фрагментов варьировала от 378 до 2177 пар нуклеотидов. Микропобеги, полученные при использовании клонального микроразмножения после 6 и 16 субкультивирований, по генетическому профилю оказались идентичными исходным сортам лаванды. В результате показана возможность длительного (как минимум, в течение 16 субкультивирований) клонального микроразмножения сортов лаванды узколистной при сохранении их генетической стабильности.*

GENETIC STABILITY OF LAVENDER (*Lavandula angustifolia* Mill.) PLANTS OBTAINED DURING LONG-TERM CLONAL MICROPROPAGATION

S.S. Babanina, N.A. Yegorova, I.V. Stavtseva, S.F. Abdurashitov

Crimea Research Agricultural Institute,
295453, Respublika Krym, Simferopol', ul. Kievskaya, 150,
E-mail: svetlana.babanina@bk.ru

*The aim of the study was to evaluate the genetic stability of lavender cultivars during long-term clonal micropropagation using RAPD and ISSR markers. The material for the study was three lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) cultivars of the Crimean breeding – 'Vdala', 'Sineva', 'Stepnaya'. The biological objects were the original donor plants (grown under controlled conditions), as well as microshoots after 6 and 16 subcultivations during *in vitro* propagation. We used two RAPD (OPA 10, OPO 13) and four ISSR primers (HB 13, HB 15, ISSR 1, ISSR 2, ISSR 3). It was not found significant differences on the number and length of shoots, the number of nodes on the shoot and the multiplication index after 6 and 16 subcultivations for all cultivars. According to the morphology, the microshoots of the three studied cultivars after different periods cultivation also did not differ from each other. Using 7 markers, we identified 62 loci. All primers used in the work were polymorphic (41.7...88.9%), and the amplification products reliably identified lavender cultivars. The length of the amplified fragments varied from 378 to 2177 base pairs. The microshoots, obtained using clonal micropropagation after 6 and 16 subcultivations, were identical in genetic profile to the original lavender cultivars. As a result, the possibility of long-term (at least 16 subcultivations) micropropagation of lavender was shown, while maintaining their genetic stability.*

Ключевые слова: лаванда узколистная, микроразмножение *in vitro*, субкультивирование, генетическая стабильность, RAPD, ISSR анализ.

Key words: english lavender, *in vitro* micropropagation, subcultivation, genetic stability, RAPD, ISSR analysis.

Род *Lavandula* включает 39 полиморфных видов, среди которых для эфиромасличного производства наиболее интересна лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia* Mill.). Основные компоненты эфирного масла этого растения – линалилацетат (30...50%) и линалоол (10...20%), минорные – гераниол, нерол, лимонен и др. Соцветия лаванды содержат кумарины, дубильные вещества, смолы, флавоноиды, фитостерин, антоцианы и органические кислоты [1]. Такой химический состав дает возможность использовать продукты переработки лаванды в медицине как успокаи-

вающее и спазмолитическое средство, в парфюмерно-косметической, пищевой промышленности и др. [2].

Повышение эффективности селекции и семеноводства лаванды в ряде случаев связано с использованием клонального микроразмножения, которое позволяет быстро тиражировать ценные генотипы (селекционные и коллекционные образцы, гибриды, растения-регенеранты и др.), получать качественный оздоровленный посадочный материал перспективных сортов, а также выступает основой создания генетических коллекций *in vitro*. В литературе достаточно

*работа выполнена в рамках госзадания Министерства образования и науки РФ FNZW-2022-0008 (122101300035-2).

широко представлены сведения о различных аспектах микроразмножения *L. angustifolia* или других видов этого рода [3, 4, 5]. Большинство публикаций касается оптимизации питательных сред и условий культивирования для основных этапов размножения *in vitro* [6, 7, 8]. При этом авторы обращают внимание на эффективность клонального микроразмножения в зависимости от генотипа, типа и происхождения экспланта, длительности культивирования и ряда других факторов [9, 10, 11].

Одной из важнейших проблем при разработке и использовании различных клеточных технологий, в частности микроразмножения [12, 13], считают анализ генетической стабильности полученных в культуре *in vitro* растений [14, 15]. Культивирование растительных клеток, тканей и органов *in vitro* связано с рядом физиологических, эпигенетических и генетических изменений [16], приводящих к снижению регенерационного потенциала, появлению оводненных побегов, индукции соматической изменчивости и другим нежелательным при микроразмножении процессам [17, 18, 19].

Разные виды растений подвержены подобным изменениям в различной степени. Так, в исследованиях A.R. Parag с соавторами с использованием ISSR маркеров показано, что при микроразмножении *Ficus carica* полиморфизм находится на уровне 2,13 % [20]. При получении меристемных растений сахарного тростника частота полиморфизма для 98 локусов RAPD составила 6,93 % [21], при микроразмножении *in vitro* 14 образцов *Dictyospermum ovalifolium* – 3,92 %, что указывает на наличие геномной изменчивости, хотя и низкого уровня [18]. В нескольких работах с клубникой показано, что микрорастения, полученные с использованием культуры ткани *in vitro*, более подвержены генетическим вариациям в полевых условиях, по сравнению с размножаемыми обычным способом [22, 23].

Вариации, индуцированные в процессе культивирования *in vitro*, можно определить на морфологическом, цитологическом, биохимическом и молекулярном уровнях с использованием разных методов, например, изоферментного анализа. Однако при его использовании существует ряд ограничений, в частности, этот метод позволяет определять изменения только в белок кодирующих последовательностях, существует зависимость от модифицирующих условий среды и онтогенетических изменений [24].

Поэтому наиболее стабильные характеристики растительного материала, пригодные для идентификации генотипов, в том числе их вероятного отклонения при субкультивировании, обеспечивает только анализ ДНК. В связи с этим в ходе микроразмножения *in vitro* целесообразно осуществлять скрининг генетической однородности с использованием современных молекулярных методов [16]. Для решения этой задачи интересны и, по мнению ряда ученых, наиболее информативны многокомпонентные маркерные системы, к числу которых относят Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) и Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) маркеры [25]. Изменения в RAPD/ISSR-профиле могут быть вызваны потерей/приобретением бэнда при отжиге из-за точечных мутаций, вставкой или удалением последовательностей или транспозицией элементов [21, 26].

Цель исследования – оценить генетическую стабильность сортов лаванды узколистной при длительном клональном микроразмножении с использованием RAPD и ISSR маркеров.

Табл. 1. Характеристика используемых в работе праймеров (последовательность, температура отжига)

Праймер	Нуклеотидная последовательность праймера (5'→3')	Температура отжига, °C
RAPD		
OPA 10	GTGATCGCAG	32,0
OPO 13	GTCAGAGTCC	32,0
ISSR		
HB 13	(GAG) ₃ GC	38,0
HB 15	(GTG) ₃ GC	38,0
ISSR 1	(GAC) ₆	52,8
ISSR 2	(GTG) ₆ A	57,0
ISSR 3	(GTG) ₆ T	57,0

Методика. Работу проводили в Научно-исследовательском институте сельского хозяйства Крыма. В качестве материала для исследования выбраны три сорта лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) селекции института – Вдала, Синева, Степная. Биологическими объектами служили исходные растения, выращенные в условиях зарытого грунта, а также микрорастения, размноженные *in vitro* после 6 и 16 субкультивирований.

При клональном размножении *in vitro* лаванды использовали ранее разработанную методику [8, 9]. Эксплантами служили меристемы с 2-мя листовыми примордиями (0,3...0,4 мм), которые культивировали на модифицированной среде Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением 1,0 мг/л кинетина и 0,5 мг/л гибберелловой кислоты (ГК₃) (Sigma, США). При дальнейшем размножении использовали сегменты стебля с узлом (5...7 мм), полученные при микрочеренковании микропобегов, которые культивировали на среде МС с 0,5 мг/л кинетина и 0,1 мг/л ГК₃. Микрочеренкование проводили каждые 30...35 сут. Экспланты культивировали при 24...26 °C, относительной влажности воздуха 70 %, освещенности 2...3 клк с 16-часовым фотопериодом. В конце цикла выращивания определяли длину и число побегов, количество узлов на побеге и другие параметры. При определении коэффициента размножения количество образующихся на экспланте побегов умножали на

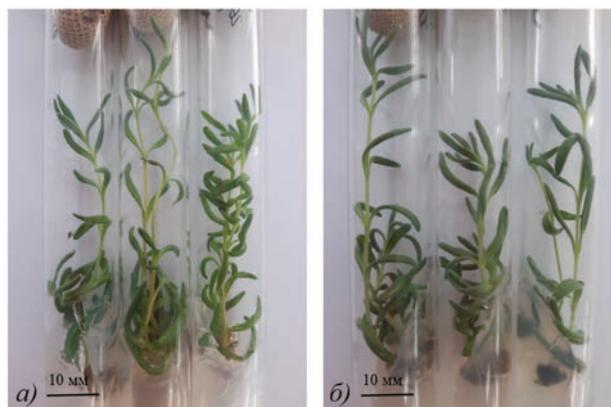


Рис. 1. Микропобеги лаванды сорта Степная, полученные после 6 (а) и 16 (б) субкультивирований при микроразмножении *in vitro*.

Табл. 2. Влияние количества субкультивирований и сорта на развитие экплантов на 2-м этапе клонального микроразмножения лаванды узколистной

Сорт	Число субкультивирований	Число побегов, шт./эксплант	Длина побега, мм	Количество узлов, шт./побег	Коэффициент размножения
	16	2,0±0,2	22,4±2,0	3,1±0,3	6,3±0,6
Синева	6	2,9±0,4	13,9±1,4	2,6±0,2	7,8±0,7
	16	2,3±0,3	19,7±1,7	3,2±0,3	7,4±0,8
Степная	6	1,7±0,2	18,5±1,5	3,0±0,3	5,1±0,5
	16	1,3±0,2	26,7±2,2	3,9±0,3	5,0±0,6

число узлов на побеге. Опыты проведены в 3-х кратной повторности, в каждом варианте анализировали не менее 20 экплантов.

Геномную ДНК экстрагировали из листьев растений лаванды адаптированным СТАВ методом [27, 28, 29]. В работе использовали 2 RAPD и 4 ISSR праймера (Евроген, Россия) (табл. 1), отобранных по литературным данным [25, 30]. При постановке ПЦР использовали TaqDNA Polymerase (QiaGen, Германия).

Аmplification проводили на амплификаторе С1000 (Bio-Rad, США) при следующих условиях: 1 цикл – денатурация при 94 °С – 3 мин.; 35 циклов – 94 °С – 30 с, отжиг – 32...60 °С – 30 с, элонгация – 72 °С – 1 мин; 1 цикл – дорепликация, 72 °С – 10 мин.

Табл. 3. Характеристики RAPD- и ISSR-полиморфизма в исследованной выборке сортов лаванды и их потомства при микроразмножении (количество образцов n = 9)

Молекулярный маркер	Число ампликонов, шт.			Полиморфизм, %	Длина амплифицированных фрагментов, п.н.	
	все-го	моно-морфных	поли-морфных		min	max
OPO 10	6	1	5	83,3	728	1846
OPO 13	8	1	7	87,5	463	1514
HB 13	10	2	8	88,9	430	2177
HB 15	7	2	5	71,4	422	1069
ISSR 1	12	7	5	41,7	407	1588
ISSR 2	7	2	5	71,4	564	1192
ISSR 3	12	7	5	41,7	378	2008

Разделение продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 2,0 %-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. В качестве буферной среды геля использовали трис-ЭДТА – боратно-буферную систему – 0,09 М Трис, 0,09 М H₃BO₃, 0,003 М ЭДТА (pH 8,3) [31].

Визуализацию продуктов ПЦР осуществляли на трансиллюминаторе ТСР-20 МС с последующим фотографированием гелей. В качестве маркера для определения размеров амплифицированных фрагментов использовали ДНК маркер Step 100 Long. Все ПЦР реакции осуществляли 2 раза в независимых экспериментах.

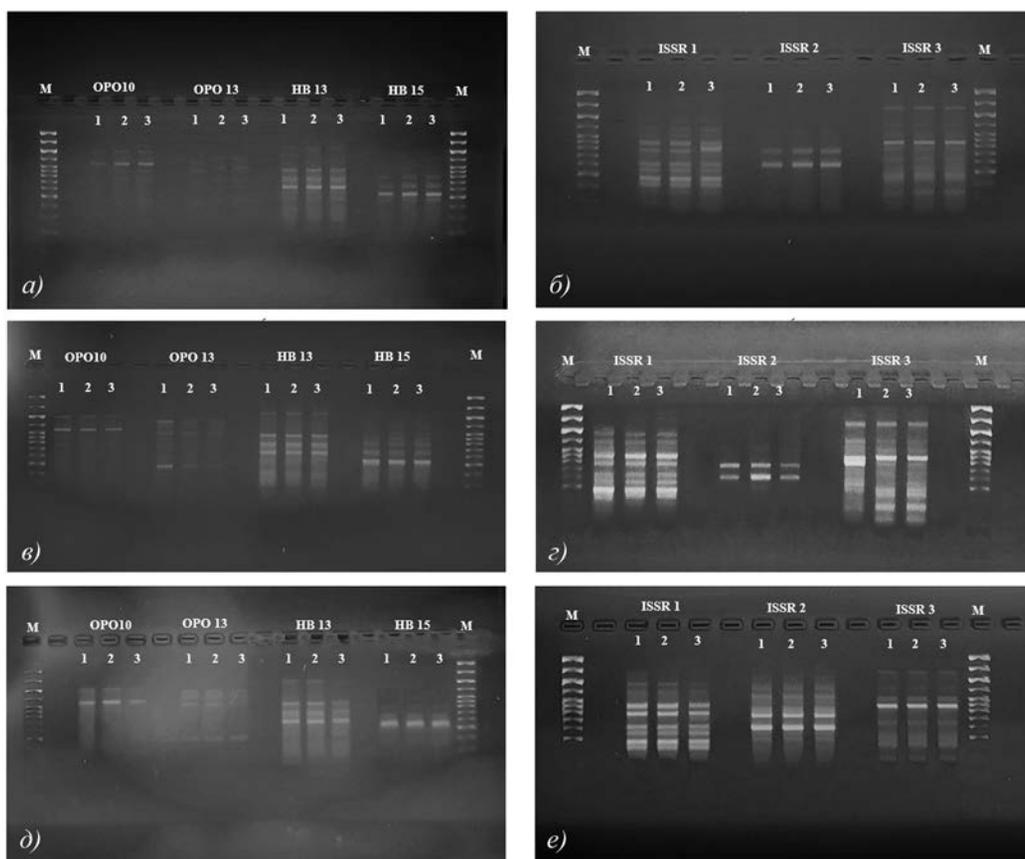


Рис. 2. Электрофореграммы генетических профилей сортов лаванды Вдала (а, б), Синева (в, з) и Степная (д, е) с использованием RAPD и ISSR маркеров: М – маркер молекулярной массы, 1 – растение исходного сорта, 2 – микропобеги после 6 субкультивирований, 3 – микропобеги после 16 субкультивирований.

Расчет молекулярной массы продуктов амплификации проводили с помощью программы GelAnalyzer.

Регистрацию результатов ПЦР-анализов осуществляли путем построения бинарных матриц по каждому локусу, в которых указывали «присутствие» (1) или «отсутствие» (0) фрагментов с одинаковой молекулярной массой на электрофореграмме. Построение дендрограммы осуществляли в программе STATISTICA 10 на основании бинарной матрицы: метод объединения – UPGMA, мера близости – эвклидово расстояние.

Результаты и обсуждение. При введении меристем лаванды в асептическую культуру наблюдали формирование основного побега и дополнительных почек и побегов. Для дальнейшего размножения проводили микрочеренкование полученных побегов и переносили их на свежую питательную среду. При микроразмножении лаванды можно использовать как микрочеренкование побегов, так и индукцию множественного побегообразования, что позволяет повысить коэффициент размножения [9]. На втором этапе клонального микроразмножения при культивировании микрочеренков из них развивались 1...2 пазушных и адвентивных микропобега длиной 13,2...26,7 мм. Ранее было показано, что у сортов *L. angustifolia* при микроразмножении в

течение 9-и субкультивирований количество побегов и коэффициент размножения увеличивались к 3...4-му субкультивированию, а затем наблюдалась некоторая стабилизация этих параметров [4]. В рассматриваемом эксперименте использовали более длительное микроразмножение, вплоть до 16-и субкультивирований. Результаты исследования свидетельствуют, что в пределах одного сорта достоверные различия между микропобегами после 6 и 16 субкультивирований по основным параметрам (количество и длина побегов, число узлов на побеге и коэффициент размножения) отсутствуют (табл. 2). При визуальном анализе по морфологии микропобеги одного сорта разных сроков культивирования также между собой не отличались (рис. 1). Это свидетельствует о возможности достаточно длительного (почти 2 года) микроразмножения лаванды без снижения основных параметров развития меристемных культур.

Важнейшая задача при микроразмножении *in vitro* – сохранение генотипа исходных сортов, которое можно подтвердить методом анализа ДНК. С использованием многокомпонентных маркерных систем на изученной выборке генотипов амплифицировалось от 6 (ОРО 10) до 12 (ISSR 1 и 3) фрагментов. С использованием 7 маркеров идентифицировано наличие

Табл. 4. Генотипирование сортов лаванды и растений, полученных при микроразмножении *in vitro*

Вдала			Синева			Степная		
исходный	6 субкультивирований	16 субкультивирований	исходный	6 субкультивирований	16 субкультивирований	исходный	6 субкультивирований	16 субкультивирований
ОРО 10								
1846, 1576, 1065, 880, 728	1846, 1576, 1065, 880, 728	1846, 1576, 1065, 880, 728	1576, 1207, 1065, 879, 728	1576, 1207, 1065, 879, 728	1576, 1207, 1065, 879, 728	1576, 1065	1576, 1065	1576, 1065
ОРО 13								
1220, 1090, 730, 590, 463	1220, 1090, 730, 590, 463	1220, 1090, 730, 590, 463	1373, 1220, 1090, 999, 730, 463	1373, 1220, 1090, 999, 730, 463	1373, 1220, 1090, 999, 730, 463	1514, 1373, 1090, 590	1514, 1373, 1090, 590	1514, 1373, 1090, 590
НВ 13								
1843, 1001, 750, 662, 590, 515, 430	1843, 1001, 750, 662, 590, 515, 430	1843, 1001, 750, 662, 590, 515, 430	1843, 1001, 814, 750, 662, 590, 515	1843, 1001, 814, 750, 662, 590, 515	1843, 1001, 814, 750, 662, 590, 515	2177, 1001, 879, 814, 750	2177, 1001, 879, 814, 750	2177, 1001, 879, 814, 750
НВ 15								
788, 654, 479, 422	788, 654, 479, 422	788, 654, 479, 422	1069, 937, 788, 654, 560	1069, 937, 788, 654, 560	1069, 937, 788, 654, 560	937, 788, 654	937, 788, 654	937, 788, 654
ISSR 1								
1588, 1401, 1148, 1001, 836, 735, 591, 539, 498, 445, 407	1588, 1401, 1148, 1001, 836, 735, 591, 539, 498, 445, 407	1588, 1401, 1148, 1001, 836, 735, 591, 539, 498, 445, 407	1401, 1148, 836, 735, 591, 539, 498, 445	1401, 1148, 836, 735, 591, 539, 498, 445	1401, 1148, 836, 735, 591, 539, 498, 445	1401, 1148, 1001, 836, 735, 638, 591, 539, 498	1401, 1148, 1001, 836, 735, 638, 591, 539, 498	1401, 1148, 1001, 836, 735, 638, 591, 539, 498
ISSR 2								
743, 596	743, 596	743, 596	743, 596	743, 596	743, 596	1192, 979, 883, 743, 701, 596, 564	1192, 979, 883, 743, 701, 596, 564	1192, 979, 883, 743, 701, 596, 564
ISSR 3								
2008, 1322, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 415	2008, 1322, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 415	2008, 1322, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 415	1854, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415, 378	1854, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415, 378	1854, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415, 378	1891, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415	1891, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415	1891, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415

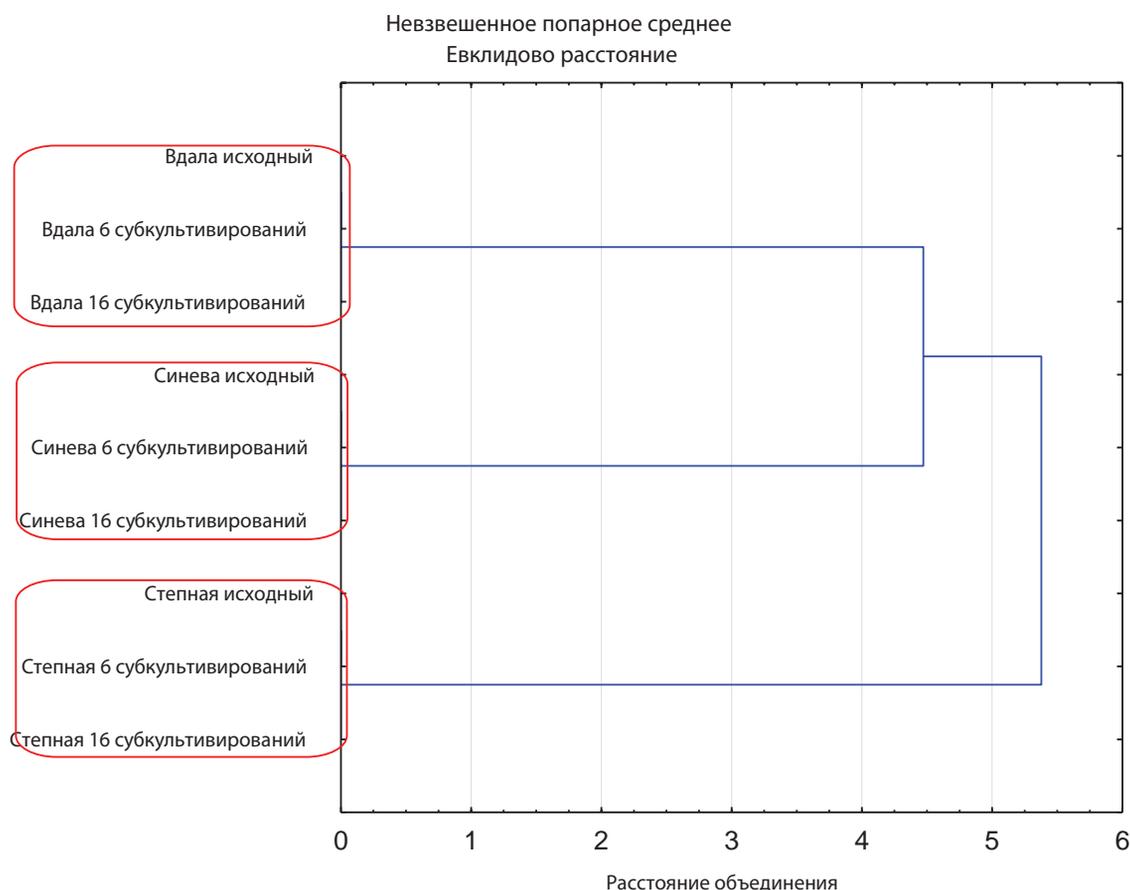


Рис. 3. Дендрограмма 9 образцов лаванды на основе данных, полученных в ходе ПЦР-анализа.

62 локусов, из которых доля полиморфных ампликонов варьировала от 41,7 % для праймера ISSR 1 до 88,9 % для праймера НВ 13 (табл. 3). Длина амплифицированных фрагментов составляла от 378 до 2177 пар нуклеотидов.

Все используемые в работе праймеры оказались полиморфными, продукты амплификации надежно идентифицировали выбранные для исследования сорта лаванды (табл. 4). На основании этого сделано заключение о пригодности рассматриваемых многокомпонентных маркерных систем для оценки полиморфизма, в том числе возникающего при клональном микроразмножении.

Микропобеги сортов лаванды Вдала, Синева и Степная после 6 и 16 субкультивирования по генетическому профилю были идентичны исходному сорту (см. табл. 4, рис. 2). Так, количество амплифицированных бэндов и их длина у микроразмноженных растений не отличались от исходных. Например, для исходных и микроразмноженных в течение 6 и 16 субкультивирований растений сорта Вдала с используемыми в работе праймерами всего установлено 43 бэнда, Синева – 43, Степная – 39. Однако соотношение бэндов разной длины для каждого сорта было уникальным.

Аналогичные исследования проводят на разных культурах. Так, W. Al Khateeb с соавторами в своей работе [32] оценили генетическую стабильность при микроразмножении *Lavandula coronopifolia* Poir. и показали генетическое сходство между материнскими растениями и размноженными *in vitro* в течение

нескольких пассажей с использованием 15 ISSR маркеров. Генетическая стабильность между исходными сортами и размноженными *in vitro* установлена для *Thymus persicus* [33] с использованием 8 RAPD праймерами, *Capparis spinosa* L. и *Lavandula dentata* L. – с 15 RAPD праймерами [34].

Анализ дендрограммы, построенной с использованием бинарной матрицы и отражающей взаимоотношения между растениями лаванды исходных сортов и размноженными *in vitro* свидетельствует, что внутри каждой группы, получаемой в результате разделения объектов на кластеры, объекты более сходны между собой, чем с объектами из других групп (рис. 3). Исходные сорта Вдала, Синева и Степная не отделены на дендрограмме от образцов, полученных методом микроразмножения *in vitro* (представлены одной линией), что подтверждает их идентичность. Это еще раз наглядно отображает надежность разработанной методики клонального микроразмножения [8, 9].

Выводы. Используемые в работе доминантные многокомпонентные маркерные системы RAPD и ISSR надежно идентифицировали сорта лаванды крымской селекции. В результате исследования для изученных сортов (Вдала Степная и Синева) не установлены какие либо генетические изменения в ходе продолжительного микроразмножения *in vitro*.

Результаты исследований свидетельствуют о возможности длительного (как минимум, в течение 16 субкультивирований) клонального микроразмножения сортов лаванды узколистной. При этом в процессе размножения *in vitro* не происходило суще-

ственных изменений морфометрических параметров эксплантов и сохранялась генетическая стабильность изученных сортов.

Литература.

1. Эфирные масла и их качество / В. С. Папштейцкий, Л. А. Тимашева, О. А. Пехова и др. Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2021. 212 с.
2. The chromosome-based lavender genome provides new insights into Lamiaceae evolution and terpenoid biosynthesis / J. Li, Y. Wang, Y. Dong, et al. // *Horticulture Research*. 2021. Vol. 8. Article 53. URL: <https://academic.oup.com/hr/article/doi/10.1038/s41438-021-00490-6/6446685> (дата обращения: 1.06.2022). doi: 10.1038/s41438-021-00490-6.
3. Hamza A., El-Kafie O. A., Kasem M. Direct micropropagation of english lavender (*Lavandula angustifolia* Munstead) plant // *Journal of Plant Production*. 2011. Vol. 2. No. 1. P. 81–96. doi: 10.21608/jpp.2011.85464.
4. Morphogenetic, Physiological, and Biochemical Features of *Lavandula angustifolia* at Long-Term Micropropagation In Vitro / N. A. Yegorova, I. V. Mitrofanova, V. A. Brailko, et al. // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019. Vol. 66. No. 2. P. 326–334. doi: 10.1134/S1021443719010060.
5. Rapid and efficient protocol for clonal propagation of phenolic-rich *Lavandula multifida* / M. Zuzarte, A. M. Dinis, L. Salgueiro, et al. // *J. of Agricultural Science*. 2015. Vol. 7. No. 3. P. 8–17. doi:10.5539/jas.v7n3p8.
6. Micropropagation of lavender: a protocol for production of plantlets // J. Koefender, C. E. Manfio, J. N. Camera, et al. // *Horticultura Brasileira*. 2021. No. 39. P. 404–410. doi: 10.1590/s0102-0536-20210409.
7. Some morphophysiological features of lavender cultivar micropropagated in vitro by meristem culture / N. Yegorova, V. Brailko, I. Stavtzeva, et al. // *Agriculture & Forestry*. 2018. Vol. 64. No. 1. P. 105–111. doi: 10.17707/AgricultForest.64.1.13.
8. Егорова Н. А., Ставцева И. В. Разработка биотехнологических приемов микроразмножения in vitro для *Lavandula angustifolia* Mill. // *Труды Кубанского государственного аграрного университета*. 2015. № 54. С. 138–142.
9. Егорова Н. А. Биотехнология эфиромасличных растений: создание новых форм и микроразмножение in vitro: монография. Симферополь: Издательский дом «Автограф» (Екатеринбург), 2021. 315 с.
10. Micropropagation of *Lavandula angustifolia* Mill. 'Record' and 'Belyanka' / I. V. Mitrofanova, S. N. Chirkov, N. P. Lesnikova-Sedoshenko, et al. // *Acta Hort.* 2017. Vol. 1187. P. 37–42. doi: 10.17660/ActaHortic.2017.1187.4.
11. Kara N., Baydar H. Effects of different explant sources on micropropagation in Lavender (*Lavandula* sp.) // *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2012. Vol. 15. No. 2. P. 250–255.
12. Применение биотехнологических методов в оздоровлении растений и размножении безвирусного посадочного материала перспективных цветочно-декоративных культур / О. В. Митрофанова, И. В. Митрофанова, Н. П. Лесникова-Седошенко и др. // *Сборник научных трудов ГНБС*. 2014. Т. 138. С. 5–56.
13. Cardoso J.C., Gerald L.T.S., Teixeira da Silva J.A. Micropropagation in the Twenty-First Century. In: *Plant cell culture protocols (4th edition) / eds.: V.M. Loyola-Vargas, N. Ochoa-Alejo*. New York: Humana Press, 2018. P. 17–46.
14. Teixeira da Silva J. A., Bolibok H., Rakoczy-Trojanowska M. Molecular markers in micropropagation, tissue culture and in vitro plant research, *Genes // Genomes and Genomics*. 2007. Vol. 1. No. 1. P. 66–72.
15. Butiuc-Keul A., Farkas A., Cristea V. Genetic Stability Assessment of in Vitro Plants by Molecular Markers // *Studia universitatis babeş-bolyai biologia*. 2016. Vol. LXI. No. 1. P. 107–114.
16. Venkatachalam L., Sreedhar RV, Bhagyalakshmi N. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of banana using RAPD and ISSR markers // *Electronic Journal of Biotechnology*. 2007. Vol. 10 No. 1. P. 106–113. doi: 10.4067/S0717-34582007000100010.
17. Технологии выращивания высококачественного посадочного материала плодовых и ягодных растений / Ю. В. Трунов, Ф. В. Соловьев, И. И. Козлова и др. Мичуринск: ООО «БИС», 2018. 246 с.
18. Assessment of genetic stability of in vitro grown *Dictyospermum ovalifolium* / M. Chandrika, S. Thoyajaksha, R. Ravishankar, et al. // *Biologia Plantarum*. 2008. Vol. 52. No. 4. P. 735–739.
19. Influence of ventilation closure, gelling agent and explant type on shoot bud proliferation and hyperhydricity in *Scrophularia yoshimurae* – a medicinal plant / H.-S. Tsay, C.-Y. Lee, D. C. Agrawal, et al. // *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 2006. Vol. 42. No. 5. P. 445–449.
20. Parab A. R., Lynn C. B., Subramaniam S. Assessment of genetic stability on in vitro and ex vitro plants of *Ficus carica* var. black jack using ISSR and DAMD markers // *Mol Biol Rep*. 2021. Vol. 48. No. 11. P. 7223–7231. doi: 10.1007/s11033-021-06714-1.
21. Genetic instability of sugarcane plants derived from meristem cultures / M. I. Zucchi, H. Arizono, V. A. Morais, et al. // *Genetics and Molecular Biology*. 2002. Vol. 25. No. 1. P. 91–96.
22. Debnath S. C. Molecular approaches for monitoring clonal fidelity and epigenetic variation in in vitro-derived strawberry plants // *Acta Hort.* 2017. Vol. 115. P. 683–687.
23. In vitro propagation method for production of morphologically and genetically stable plants of different strawberry cultivars / A. H. Naing, S. H. Kim, M. Y. Chung, et al. // *Plant Methods*. 2019. Vol. 15. No. 36. URL: <https://plantmethods.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13007-019-0421-0> (дата обращения: 1.04.2022). doi: 10.1186/s13007-019-0421-0.
24. Chograni H., Zaouali Y., Boussaid M. Genetic diversity of natural Tunisian *Lavandula multifida* L. (*Lamiaceae*) populations assessed by allozymes and random amplification of polymorphic DNA (RAPD) // *African Journal of Biotechnology*. 2013. Vol. 12. No. 7. P. 648–657. doi: 10.5897/AJB12.1748.
25. Ahmed S. M., Al-Sodany Y. Authentication of Ecological, Biochemical and Molecular Features for Some *Lamiaceae* Species from Saudi Arabia // *Egypt. J. Bot*. 2019. Vol. 59. No. 3. P. 581–594. doi: 10.21608/ejbo.2019.6144.1246.
26. Peschke V. M., Phillips R. L., Gengenbach B. G. Genetic and molecular analysis of tissue-culture-derived *Ac* elements // *Theor. Appl. Genet*. 1991. Vol. 82. P. 121–129.

27. Doyle J. J. *Isolation of plant DNA from fresh tissue* // *Focus*. 1990. Vol. 12. P. 13–15.
28. Загорская М. С. Некоторые аспекты выделения геномной днк из растений лаванды разного происхождения // *Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки: материалы V международной научно-практической конференции*. Симферополь: Общество с ограниченной ответственностью «Издательство Типография «Ариал», 2020. С. 177–179. doi: 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-90.
29. *An efficient DNA isolation method for tropical plants* / Q. X. Huang, X. C. Wang, H. Kong, et al. // *African Journal of Biotechnology*. 2013. Vol. 12. No. 19. P. 2727–2732.
30. Gadouche L., Saadi A., Zidane A. *Molecular polymorphism in dentate lavender from littoral Algerian* // *Journal Genetics and Biodiversity*. 2019. Vol. 3. No. 2. P. 40–48.
31. *Current protocols in molecular biology* / P. M. Ausubel, R. Brent, R. E. Kingston, et al. New York: Wiley, 1997. 630 p.
32. Al Khateeb W., Kanaan R., El-Elimat T. *In vitro Propagation, Genetic Stability, and Secondary Metabolite Analysis of Wild Lavender (Lavandula coronopifolia Poir.)* // *Hortic. Environ. Biotechnol.* 2017. Vol. 58. No. 4. P. 393–405. doi: 10.1007/s13580-017-0342-7.
33. *In vitro propagation, genetic and phytochemical assessment of Thymus persicus – a medicinally important source of pentacyclic triterpenoids* / Z. Bakhtiar, M. H. Mirjalili, A. Sonboli, et al. // *Biologia*. 2014. Vol. 69. P. 594–603. doi: 10.2478/s11756-014-0346-z.
34. *Ex situ preservation for some endemic and rare medicinal plants in Taif, KSA* / Attia O. Attia, El Dessoky S. Dessoky, Yassin M. Al-Sodany, et al. // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2017. Vol. 31. No. 5. P. 912–920. doi: 10.1080/13102818.2017.1356690.

Поступила в редакцию 21.11.2022
После доработки 18.12.2022
Принята к публикации 10.01.2023

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СОРТООБРАЗЦОВ ЛЮЦЕРНЫ РАЗЛИЧНОГО ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ЮГА СРЕДНЕРУССКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ

М. А. Тормозин¹, кандидат сельскохозяйственных наук, **В. И. Чернявских²**, доктор сельскохозяйственных наук, **Л. Д. Сайфутдинова²**, аспирант, **А. А. Зырянцева¹**, аспирант

¹Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, 620142, Екатеринбург, ул. Белинского, 112 а

²Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии им. В.Р. Вильямса, 141055, Московская обл., Лобня, ул. Научный городок, корп. 1
E-mail: cherniavskih@mail.ru

Исследования проводили с целью изучения кормовой и семенной продуктивности сортобразцов люцерны изменчивой, люцерны посевной и люцерны желтой различного географического происхождения в потенциальном ареале вредности вирусно-фитоплазменных инфекций («ведьмина метла» люцерны – ВМЛ) в условиях юга Среднерусской возвышенности и выделения наиболее продуктивных и устойчивых сортов для дальнейшей селекции. Изучали 17 сортобразцов при семенном и кормовом использовании. Оценивали сорта и селекционные образцы Среднего Урала (Сарга, Викторина, 193-95 д, 20-89 Н, Vela × Сарга), подмосковной селекции (Находка, Вега 87), селекции Центральнo-Черноземного региона (Белгородская 86, Красноярская 1, Красноярская 2, Павловская 7), Канады (Дакота), Германии (Верко, Плато), Франции (Люзель, Галакси), Саратовской области (Артемиды). В условиях юга Среднерусской возвышенности сорта и сортобразцы уральской селекции отличаются наиболее стабильной урожайностью семян, которая в среднем за 3 года исследований находилась на уровне 76,3...84,2 г/м². По общему урожаю сухого вещества за трехлетний период они не уступают отечественным и импортным сортам, наиболее широко распространены в Центральнo-Черноземном регионе и позволяют получать в среднем за 3 года 516,8...537,9 г/м² СВ. Среди сортов люцерны гибридной и посевной наиболее сильно подвержены вирусно-фитоплазменным инфекциям (ВМЛ) сорта европейской селекции – распространенность в среднем за 3 года 12,1...16,3 %. В наименьшей степени в этой группе сортов поражаются пестрогибридные сорта и селекционные образцы люцерны изменчивой уральской селекции (в среднем за 3 года 3,3...4,5 %). Самая низкая поражаемость ВМЛ отмечена в посевах люцерны желтой сорта Павловская 7 – распространенность в среднем за 3 года 1,6 %. Для повышения семенной продуктивности люцерны и ее устойчивости к ВМЛ в условиях юга Среднерусской возвышенности в селекционной работе необходимо использовать уральские сорта и селекционные образцы Сарга, Викторина, 193-95 д, 20-89 Н, Vela × Сарга и сорт люцерны желтой Павловская 7.

ECOLOGICAL STUDY OF ALFALFA VARIETIES OF DIFFERENT GEOGRAPHICAL ORIGIN IN THE SOUTH OF THE CENTRAL RUSSIAN UPLAND

M. A. Tormozin¹, V. I. Cherniavskih¹, L.D. Sajfutdinova², A. A. Zyryantseva¹

¹Research Institute of Agriculture – a branch of the Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 620142, Ekaterinburg, ul. Belinskogo, 112 a

²Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology, 141055, Moskovskaya obl., Lobnya, ul. Nauchnygorodok, korp. 1
E-mail: cherniavskih@mail.ru

The research was conducted to study the fodder and seed productivity of alfalfa varieties, alfalfa sowing and yellow alfalfa of different geographical origin in the potential range of harmful viral phytoplasma infections («witch's broom alfalfa») in the southern Middle Russian uplands and to identify the most productive and resistant varieties for further breeding. Seventeen alfalfa varieties were studied in seed and fodder use. We evaluated varieties and breeding patterns of the Middle Urals (Sarga, Victoria, 193-95 d, 20-89 N, Vela x Sarga), Moscow suburbs breeding (Nakhodka, Vega 87), breeding of the Central Black Earth region (Belgorod 86, Krasnoyarskaya 1, Krasnoyarskaya 2, Pavlovskaya 7), Canada (Dakota), Germany (Verko, Plato), France (Luzelle, Galaxy), Saratov region (Artemida). Under the conditions of the southern Srednerusskaya Upland, varieties and variety samples of the Ural breeding have the most stable seed yield – on average over 3 years of research at the level of 76,3...84,2 g/m². In terms of total dry matter yield over a three-year period they are not inferior to domestic and imported varieties, the most widely distributed in the Central Black Earth Region (CCR), and allow for an average three-year yield of 516,8 ... 537,9 g/m² dry matter. Among the varieties of hybrid alfalfa and sowing alfalfa, varieties of European selection are most susceptible to virus-phytoplasma infections (VPL) – the prevalence of VPL on average for three years is 12,1...16,3 %. In this group of varieties, varieties of heterohybrid cultivars and breeding samples of Ural alfalfa variegated varieties are least affected – the incidence of VPL averaged over three years is 3,3...4,5 %. The lowest incidence of VPL was found in the alfalfa yellow variety Pavlovskaya 7, with an average incidence of 1,6 % over three years. In order to increase alfalfa seed production and its resistance to VPL in the south of the Srednerusskaya Upland, the Ural varieties and selection samples Sarga, Victoria, 193-95 d, 20-89 N, Vela x Sarga and the yellow alfalfa variety Pavlovskaya 7 should be used in breeding work.

Ключевые слова: Medicago, селекция и семеноводство трав, урожай семян, вирусно-фитоплазменные инфекции, устойчивость

Key words: Medicago, grass breeding and seed production, seed yield, virus-phytoplasma infections, resistance

Люцерна – важнейшая сельскохозяйственная культура, в значительной степени определяющая кормовую базу и продуктивность животноводства России и всего

мира [1, 2, 3]. Несмотря на значительные успехи в мировой селекции люцерны, создание большого количества новых современных сортов, остается актуальной задачей

повышения семенной продуктивности и ее сопряженности с высокой кормовой продуктивностью, что связано с особенностями опыления и формирования семян этой культуры [4,5]. Особенно обостряется проблема продуктивности люцерны в связи с изменением климата, плодородия почв, динамикой экологических условий различных регионов, обострением проблемы опылителей, вредителей и болезней [6,7,8].

Селекционная работа по-прежнему остается наиболее надежным способом повышения семенной продуктивности люцерны с одновременным увеличением урожайности зеленой массы, сухого вещества, содержания белка и экологической устойчивости [9,10].

Для выделения наиболее ценных доноров и источников важных селекционных признаков и свойств, особенно семенной продуктивности и экологической устойчивости сортов, необходимо широкое изучение имеющегося селекционного материала в форме сортов различного географического происхождения, созданного различными методами и в различных научных учреждениях [11].

Важно оценивать, как современные сорта реагируют на новые вызовы: изменение климата и технологического уклада, распространение и появление новых болезней и вредителей [12]. В частности, в последние десятилетия во многих регионах России наблюдается снижение кормовой и особенно семенной продуктивности люцерны, связанное распространением вирусно-фитоплазменной инфекции: «ведьмина метла» люцерны (ВМЛ) [13].

Ареал заболевания включает в себя значительные территории Поволжья, Ростовской области, Северного Кавказа, Алтайского края и других регионов России, а также Украины и Средней Азии. Пораженные растения формируют большое количество мелких побегов, характеризуются карликовостью, наличием большого количества мелких листьев, редуцированными генеративными органами. Люцерна, пораженная вирусно-фитоплазменной инфекцией, отстает в росте, становится малоустойчивой к другим биотическим и абиотическим факторам, травостой преждевременно изреживаются. В ареалах вредности инфекции ВМЛ необходимо комплексное применение профилактических мероприятий, среди которых одно из основных мест занимает выращивание устойчивых сортов [14].

Возрастает роль экологического изучения материала как неотъемлемой части процесса создания форм с новыми признаками и свойствами, а также эффективного их использования в селекционно-семеноводческом процессе [15,16,17].

В связи с изложенным, цель наших исследований – изучение кормовой и семенной продуктивности сортообразцов люцерны изменчивой, люцерны посевной и люцерны желтой различного географического происхождения в потенциальном ареале вредности вирусно-фитоплазменных инфекций в условиях юга Среднерусской возвышенности и выявление наиболее продуктивных и устойчивых генотипов для дальнейшей селекции.

Методика. Совместные поисковые селекционные исследования ФНЦ «ВИК им В.Р. Вильямса» и ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН проводили в Белгородском районе Белгородской области на базе селекционно-семеноводческого предприятия ИП «Мавродин С.А.» (с. Драгунское). Почва опытного участка – чернозем типичный. Содержание гумуса – 4,7...5,0 % (по Тюрину), рН_{сод.} – 6,5...6,8, содержание P₂O₅ и K₂O (по Чирикову) – 120...125 мг/кг и 170...190 мг/кг соответственно. В период проведения исследований,

по данным метеостанции Гонки, складывались различные, в основном засушливые погодные условия. В год посева (2019 г.) в период с температурой более 10°C выпало 288,6 мм осадков (ГТК=0,79), в 2020 г. – 302,4 мм (ГТК=0,99), в 2021 г. – 273,2 мм (ГТК=0,95), в 2022 г. – 399,6 мм (ГТК=1,38).

Изучали 17 сортообразцов люцерны изменчивой, люцерны посевной и люцерны желтой, различного географического происхождения при семенном и кормовом использовании, в том числе сорта и селекционные образцы Среднего Урала (Сарга, Виктория, 193-95 д, 20-89 Н, Vela × Сарга), подмосковной селекции (Находка, Вега 87), селекции Центрально-Черноземного региона (Белгородская 86, Краснояржская 1, Краснояржская 2, Павловская 7), Канады (Дакота), Германии (Верко, Плато), Франции (Люзель, Галакси), Саратовской области (Артемиды).

Опыт был заложен в 2019 г. ранневесенним посевом в чистом виде, расположение делянок рендомизированное. В 2020 г. изучали посевы первого года использования, в 2021 г. – второго года, в 2022 г. – третьего года. Повторность и при семенном, и при кормовом использовании травостоев – пятикратная. Сорт-стандарт – люцерна изменчивая Белгородская 86. Делянки двухрядные длиной 3,5 м, ширина междурядья – 0,3 м, расстояние между отдельными делянками – 0,5 м. Посев проводили ручной сеялкой из расчета 100 всхожих семян на 1 погонный метр. Учеты урожая кормовой массы и оценку семенной продуктивности выполняли поделяночно методом укосов. После отбора проб и определения содержания сухого вещества (СВ) осуществляли пересчет урожая сухой массы. Для получения семян использовали второй укос люцерны изменчивой и люцерны посевной и первый – люцерны желтой.

Оценку распространения вирусно-фитоплазменных инфекций проводили в период отрастания люцерны после первого укоса на зеленую массу путем визуального выявления растений с явно выраженными признаками ВМЛ: карликовости, формирования большого количества мелких побегов с большим количеством редуцированных листьев и цветков, со слабым плодობразованием или его отсутствием.

Распространение болезни рассчитывали как процент (%) пораженных ВМЛ растений в общей выборке по формуле:

$$PI = n \times 100 / N,$$

где PI – распространение инфекций; N – общее число растений в пробах; n – число пораженных растений.

Математическую обработку данных с оценкой доли влияния изучаемых факторов проводили с использованием однофакторных и двухфакторных комплексов для анализа опытов с многолетними культурами с расчетом НСР_{0,05} по Доспехову [18]. Для выявления связей между изучаемыми признаками использовали метод корреляции рангов Спирмена (r_s) [19].

Результаты и обсуждение. Экологические условия региона, в первую очередь влагообеспеченность периода вегетации, позволяют получать до трех укосов люцерны. Однако в большинстве случаев основной урожай формируют два укоса. Результаты наших исследований свидетельствуют, что сорта различного географического происхождения отличались как по характеру формирования урожая в различных укосах, так и по уровню продуктивного долголетия.

По урожаю СВ можно выделить две группы резко различающихся сортов (табл. 1). К первой относятся генотипы, которые формируют наибольший урожай в первый год пользования, превосходя стандарт на 18,0...

Табл. 1. Урожайность сухого вещества различных сортообразцов люцерны, г/м²

Сортообразец	2020г.	2021 г.	2022 г.	В среднем
Белгородская-86 (st)	523,2	514,8	483,6	507,2
Сарга	504,2	530,8	541,8	525,6
Виктория	517,0	548,4	548,4	537,9
193-95 д	500,6	544,6	534,6	526,6
20-89 Н	519,8	543,8	545,4	536,3
Vela × Сарга	521,2	511,2	518,0	516,8
Находка	500,2	447,2	482,4	476,6
Вега 87	514,6	450,8	455,8	473,7
Краснояржская 1	705,8	565,4	535,0	602,1
Краснояржская 2	729,4	534,0	341,6	535,0
Дакота	726,4	518,0	323,4	522,6
Верко	734,8	510,2	292	512,3
Плато	702,8	511,0	308,4	507,4
Люзель	663,2	474,8	291,4	476,5
Галакси	621,0	448,2	308,4	459,2
Артемиды	700,8	561,4	444,0	568,7
Павловская 7	474,2	519,0	512,0	501,7
НСР ₀₅	25,3	28,5	31,2	17,6

40,4 %, но резко снижают продуктивность к третьему году пользования, значительно (на 33,1...39,7%) уступая стандарту. Если в первый год пользования они создавали урожай сухого вещества в пределах 621,0...734,8 г/м², то на третий год жизни величина этого показателя снижалась до 291,4-341,6 г/м². К числу таких генотипов следует отнести сорта люцерны посевной европейской селекции Плато, Верко, Люзель, Галакси, канадский сорт Дакота, а также сорт Краснояржская 2. Снижение урожая на третий год пользования травостоями, по сравнению с первым, у них достигало 60,2% (Плато).

Во вторую группу включены сорта со стабильной урожайностью СВ в течение трехлетнего использования травостоев. Причем на третий год пользования она либо не уступал величине этого показателя в первый год жизни, либо превосходил его на 31,0...37,6 г/м². К таким отнесены пестрогибридные сорта и селекционные образцы уральской селекции Сарга и Виктория, 193-95 д, 20-89 Н, Vela × Сарга, а также воронежский сорт люцерны желтой – Павловская 7.

Сорта синегрибридной люцерны селекции различных учреждений (Белгородская 86, Краснояржская 1, Находка, Вега 87) и люцерны посевная Артемиды занимали промежуточное положение.

В целом по опыту наибольший урожай семян у всех изученных сортов формировался в первый год семенного использования травостоев и варьировал от 46,7, до 96,2 г/м². К третьему году жизни отмечено его снижение в зависимости от сорта на 14,7...83,0% (табл. 2).

Среди общего количества изученных генотипов по способности формировать семена на юге Среднерусской возвышенности выделены несколько групп в зависимости от географического происхождения. Наименьшей семенной продуктивностью отличались сорта люцерны посевной западноевропейской селекции (Верко, Плато, Люзель, Галакси), белгородский сорт Краснояржская 2 и канадский Дакота. Урожай семян в первый год пользования семенными травостоями у них варьировал от 46,7 г/м² (Галакси) до 55,2 г/м² (Верко). Кроме того, у сортов этой группы отмечено наибольшее снижение урожайности семян на третий год пользования до 22,0...32,0 г/м². Коэффициент вариации величины этого показателя

за трехлетний период составил 52,2...76,2%, а снижение урожая семян достигало 73,4...83,0% (сорт Галакси).

Сорта белгородской (Белгородская 86, Краснояржская 1) и саратовской (Артемиды) селекции, а также созданные в Московской области в ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» (Находка, Вега 87) формировали урожай семян в первый год пользования на уровне стандарта в пределах 86,3...96,1 г/м². Однако на третий год пользования его снижение составляло 52,0...66,9%. Фактический урожай семян этих сортов в 2022 г. находился в пределах 30,1...42,4 г/м².

Особое место занимают сорта и селекционные образцы пестрогибридной люцерны уральской селекции (Сарга, Виктория, 193-95 д, 20-89 Н, Vela × Сарга) и сорт желтой люцерны воронежской селекции Павловская 7. В среднем за 3 года они формировали наибольший урожай семян (76,3...84,2 г/м²) с минимальным в опыте варьированием величины этого показателя по годам (коэффициент вариации 6,6...14,1%). Наименьшее снижение урожая от первого года пользования к третьему в этой группе отмечали у сорта Сарга (14,7%), наибольшее – у сорта Виктория и селекционного образца 193-95 д (27,5%). У люцерны желтой Павловская 7 оно составило 16,3%, при коэффициенте вариации в среднем за 3 года 7,5%.

Проявление поражения растений вирусно-фитоплазменной инфекцией ВМЛ увеличивалось от первого года пользования к третьему у всех изученных видов и сортов (табл. 3). Наиболее сильно поражились этой инфекцией сорта люцерны посевной (распространенность в первый год пользования составляла 1,1...3,0%, на третий год – 18,0...30,4%). Распространенность ВМЛ у сортов люцерны изменчивой была равна соответственно 0,8...1,7 и 7,6...12,0%. При этом у сортов уральской селекции она была значительно меньше (0,3...0,6% в первый год пользования и 7,1...8,8% на третий год). Минимальное в опыте проявление поражения вирусно-фитоплазменной инфекцией выявлено у люцерны желтой сорта Павловская 7.

Анализ результатов исследований методом двухфакторного дисперсионного анализа показал достоверное влияние факторов «год пользования травостоем»

Табл. 2. Урожайность семян различных сортообразцов люцерны, г/м²

Сортообразец	2020г.	2021 г.	2022 г.	В среднем
Белгородская-86 (st)	92,1	55,0	30,5	59,2
Сарга	91,2	83,7	77,8	84,2
Виктория	96,1	75,4	69,7	80,4
193-95 д	94,8	81,0	68,7	81,5
20-89 Н	92,0	74,8	69,4	78,8
Vela × Сарга	86,3	74,1	68,4	76,3
Находка	87,2	58,5	41,4	62,4
Вега 87	88,9	51,7	42,4	61,0
Краснояржская 1	93,6	60,6	42,0	65,4
Краснояржская 2	67,9	34,1	23,0	41,7
Дакота	68,3	31,5	17,7	39,2
Верко	55,2	27,4	14,7	32,4
Плато	47,7	18,4	8,7	24,9
Люзель	52,8	23,4	9,2	28,5
Галакси	46,7	13,1	7,9	22,6
Артемиды	94,7	49,0	30,1	57,9
Павловская 7	58,5	51,8	49,0	53,1
НСР ₀₅	13,6	16,0	12,8	9,1

Табл. 3. Распространенность вирусно-фитоплазменных инфекций у различных сортообразцов люцерны, %

Сортообразец	2020г.	2021 г.	2022 г.	В среднем
Белгородская-86 (st)	0,8	6,1	13,2	6,7
Сарга	0,5	2,2	7,1	3,3
Виктория	0,4	2,6	8,8	3,9
193-95 д	0,3	1,8	7,8	3,3
20-89 Н	0,6	2,1	7,6	3,4
Vela× Сарга	0,5	3,8	9,1	4,5
Находка	0,8	7,4	12,0	6,7
Вега 87	0,6	6,7	11,7	6,3
Краснояржская 1	0,7	6,7	12,2	6,5
Краснояржская 2	1,7	8,1	17,7	9,2
Дакота	1,1	8,8	18,0	9,3
Верко	2,1	10,9	23,4	12,1
Плато	2,7	11,4	22,6	12,2
Люзель	2,2	14,8	28,6	15,2
Галакси	3,0	15,6	30,4	16,3
Артемиды	2,4	5,9	14,2	7,5
Павловская 7	0,3	0,8	3,8	1,6
НСР ₀₅	0,8	1,4	3,9	1,7

и «сортообразец» на изучаемые результативные признаки. Установлено, что фактор А (год пользования травостоя) оказывает наибольшее влияние на результативные признаки «урожай СВ» и «распространенность ВМЛ», а влияние сорта сказывается на урожае семян ($h^2_x=51,0$ %). Взаимодействие «генотип-среда» при невозможности отклонения нулевой гипотезы его влияния для всех результативных признаков, оказывает наибольшее воздействие на урожай СВ. Полученные результаты позволяют констатировать факт достоверной зависимости урожая СВ и семян люцерны от степени распространенности ВМЛ (табл. 4).

Для оценки тесноты связи между отдельными морфобиологическими признаками, характеризующими кор-

мовую и семенную продуктивность, были рассчитаны коэффициенты корреляции Спирмана. Теснота связи различалась в зависимости от года использования травостоев. Установлена тесная отрицательная корреляционная зависимость между урожаем семян и распространенностью ВМЛ (в 1-й год пользования $r_s=-0,695$; 2-й год $r_s=-0,823$, 3-й год $r_s=-0,879$).

Одновременно, отмечена тесная отрицательная корреляция между распространенностью ВМЛ и количеством соплодий (1-й год пользования $r_s=-0,548$; 2-й год $r_s=-0,774$; 3-й год $r_s=-0,736$), между распространенностью ВМЛ и количеством продуктивных стеблей (соответственно по годам -0,851, -0,808, -0,821), а также распространенностью ВМЛ люцерны и жизнеспособностью семян в плодах (соответственно по годам -0,695, -0,803, -0,867). Такие результаты могут свидетельствовать о значительном влиянии ВМЛ на семенную продуктивность посевов и урожай семян, а также о важности подбора более устойчивых к болезни сортов.

Установлена сильная положительная корреляция между урожаем сухого вещества в первый год использования посевов и распространенностью ВМЛ: в первом укосе $r_s=0,821$, во втором $r_s=0,821$). Однако в последующие годы она сменилась противоположной. На второй год использования травостоев корреляция рангов между урожаем сухого вещества и распространенностью ВМЛ была слабоотрицательной ($r_s=-0,507...-0,537$), а на третий год – сильной отрицательной ($r_s=-0,875...-0,887$).

Установлена сильная положительная связь, подтвержденная корреляцией Спирмана между распространенностью ВМЛ и содержанием белка в сухой массе сортообразцов: в первый год пользования $r_s=0,926$, во второй год $r_s=0,871$, в третий год $r_s=0,891$.

Выводы. В условиях юга Среднерусской возвышенности сорта и сортообразцы уральской селекции обладают наиболее стабильной урожайностью семян – в среднем за 3 года исследований на уровне 76,3...84,2 г/м². По общему урожаю сухого вещества за трехлетний период они не уступают отечественным и импортным генотипам, наиболее широко распространенным в

Табл. 4. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа изучаемых признаков

Результативный признак	Источник вариации	D	n-1	s ²	F _f	F _{st0.05}	h ² _x
УС*, г/м ²	Общее	206781,3	254	–	–	–	100
	Повторения	439,5	4	–	–	–	0,2
	Случайное	25318,0	200	126,6	–	–	12,2
	А	64142,3	2	32071,1	253,3	3	31,0
	В	105460,0	16	6591,2	52,1	1,7	51,0
	А×В	11421,4	32	356,9	2,8	1,5	5,5
УСВ, г/м ²	Общее	2952819,8	254	–	–	–	100
	Повторения	5037,2	4	–	–	–	0,2
	Случайное	99997,9	200	499,9	–	–	3,4
	А	1067734,3	2	533867,1	1067,8	3	36,2
	В	302649,6	16	18915,6	37,8	1,7	10,2
	А×В	1477400,6	32	46168,8	92,4	1,5	50,0
ВМЛ, %	Общее	32784,6	509	–	–	–	100
	Повторения	413,6	9	–	–	–	1,2
	Случайное	4065,5	450	9,0	–	–	12,4
	А	15360,2	2	7680,1	850,1	3	46,8
	В	8974,2	16	560,8	62,1	1,7	27,4
	А×В	3970,9	32	124,1	13,7	1,4	12,1

*УС – урожай семян; УСВ – урожай сухого вещества; ВМЛ – распространенность вирусно-фитоплазменных инфекций; фактор А – «год использования травостоя»; фактор В – «сортообразец»; D – сумма квадратов отклонений (девианта); s² – дисперсия; n-1 – число степеней свободы; h²_x – сила влияния на результативный признак.

Центрально-Черноземном регионе (ЦЧР) и позволяют получать в среднем за 3 года 516,8...537,9 г/м² СВ. Вирусно-фитоплазменные инфекции люцерны в форме «ведьминой метлы» способны оказывать решающее влияние на урожайность люцерны, возделываемой на корм и особенно на семена. Наименьшая поражаемость ВМЛ отмечена в посевах люцерны желтой сорта Павловская 7 – распространенность в среднем за 3 года 1,6 %. Среди образцов люцерны гибридной и посевной наиболее сильно подвержены инфекции сорта европейской селекции – Галакси, Верко, Плато, Люзель (распространенность в среднем за 3 года 12,1...16,3 %). В наименьшей степени в этой группе поразились сорта и селекционные образцы люцерны изменчивой уральской селекции Сарга, Виктория, 193-95 д, 20-89 Н, Vela × Сарга (распространенность в среднем за 3 года 3,3...4,5 %). Для повышения семенной продуктивности люцерны и ее устойчивости к ВМЛ в условиях юга Среднерусской возвышенности в селекционной работе необходимо использовать уральские сорта и селекционные образцы Сарга, Виктория, 193-95 д, 20-89 Н, Vela × Сарга и желтую люцерну Павловская 7.

Литература

1. Косолапов В. М., Трофимов И. А. *Всероссийский НИИ кормов: итоги научной деятельности за 2010 и 2006-2010 годы* // *Кормопроизводство*. 2011. № 1. С. 3–4.
2. *Кормопроизводство – важный фактор роста продуктивности и устойчивости земледелия* / В. М. Косолапов, И. А. Трофимов, Л. С. Трофимова и др. // *Земледелие*. 2012. № 4. С. 20–22.
3. *Современное развитие системного подхода к конструированию агроландшафтов (К 150-летию со дня рождения выдающихся ученых)* / В. М. Косолапов, И. А. Трофимов, Л. С. Трофимова и др. // *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2013. № 5. С. 11–14.
4. Косолапов В. М., Чернявских В. И., Костенко С. И. *Новые сорта кормовых культур и технологии для сельского хозяйства России* // *Кормопроизводство*. 2021. № 6. С. 22–26.
5. Тормозин М. А., Нагибин А. Е., Зырянцева А. А. *Изучение самофертильных, автотриппингующихся линий люцерны – основа создания высокопродуктивных сортов* // *Достижения науки и техники АПК*. 2019. Т. 33. № 1. С. 30–33. doi: 10.24411/0235-2451-2019-10107.
6. Косолапов В. М., Костенко С. И., Пилипко С. В. *Направления и задачи селекции кормовых трав в России* // *Достижения науки и техники АПК*. 2018. Т. 32. № 2. С. 21–24. doi: 10.24411/0235-2451-2018-10205.
7. Соложенцева Л. Ф. *Селекция люцерны на устойчивость к основным болезням при использовании искусственного инфекционного фона* // *Многофункциональное адаптивное кормопроизводство: сб. науч. тр. М.: Угрешская типография, 2017. вып. 13 (61). С. 159–168.*
8. Тормозин М. А., Зырянцева А. А. *Изучение коллекции люцерны в условиях Среднего Урала по основным хозяйственно ценным признакам* // *Достижения науки и техники АПК*. 2020. Т. 34. № 8. С. 56–59. doi: 10.24411/0235-2451-2020-10809.
9. Костенко С. И., Седова Е. Г., Думачева Е. В. *Селекция кормовых культур – основа устойчивого кормопроизводства на современном этапе развития России* // *Достижения науки и техники АПК*. 2022. Т. 36. № 4. С. 15–21. doi: 10.53859/02352451_2022_36_4_15.
10. *Эффективность весеннего подкашивания люцерны при выращивании ее на семенные цели в условиях Чеченской Республики* / Ш. М. Абасов, М. Ш. Гаплаев, Р. Х. Бекбулатов и др. // *Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса*. 2022. № 4(54). С. 26–31. doi: 10.32935/2221-7312-2022-54-4-26-31
11. Чернявских В. И. *Рекуррентная селекция как основа повышения продуктивности люцерны в Центрально-Черноземном регионе* // *Кормопроизводство*. 2016. № 12. С. 40–44.
12. Золотарев В. Н., Сапрыкин С. В. *Травосеяние и семеноводство многолетних трав в структуре растениеводства как основа биологизации земледелия и развития кормопроизводства в региональном аспекте* // *Кормопроизводство*. 2020. № 5. С. 3–15.
13. *Фитоплазменные болезни: исторический обзор к 50-летию открытия фитоплазмозов* / Д. З. Богоутдинов, Т. Б. Кастальева, Н. В. Гирсова и др. // *Сельскохозяйственная биология*. 2019. Т. 54. № 1. С. 3–18. doi: 10.15389/agrobology.2019.1.3rus
14. Богоутдинов Д. З. *Ведьмина метла люцерны (фитоплазмоз): этиология болезни, состояние изученности* // *Вестник защиты растений*. 2013. № 3. С. 26–33.
15. Соложенцева Л. Ф. *Выявление и создание устойчивого к наиболее вредоносным грибным болезням перспективного материала* // *Адаптивное кормопроизводство*. 2021. № 4. С. 57–66. doi: 10.33814/AFP-2222-5366-2021-4-57-66.
16. Золотарев В. Н., Переpravо Н. И., Степанова Г. В. *Биологические основы агроэкологического семеноводства люцерны в России* // *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2016. № 4. С. 44–47.
17. Золотарев В. Н., Косолапов В. М., Переpravо Н. И. *Состояние травосеяния и перспективы развития семеноводства многолетних трав в России и Волго-Вятском регионе* // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2017. № 1(56). С. 28–34.
18. Доспехов Б. А. *Методика полевого опыта: (С основами статистической обработки результатов исследований)*. М.: Книга по Требованию, 2012. 352 с.
19. Лакин Г. Ф. *Биометрия*. М.: Высш. школа, 1990. 352 с.

Поступила в редакцию 30.11.2022
 После доработки 21.12.2022
 Принята к публикации 10.01.2023

ВЛИЯНИЕ МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ УРОЖАЙНОСТИ ГОЛОЗЁРНОГО ОВСА В КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ*

Н. В. Емелева, кандидат сельскохозяйственных наук, Г. А. Баталова, доктор сельскохозяйственных наук, академик РАН

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

Исследования проводили в 2019–2021 гг. в Кировской области с целью оценить сорта и линии овса голозёрного по урожайности и элементам структуры продуктивности на фоне варьирования метеоусловий в период вегетации и выделить перспективные для использования в производстве. Изучали четыре линии голозёрного овса и сорт Багет, в сравнении со стандартом сортом Вятский. В среднем за годы исследования наибольшая урожайность (4,34 т/га), наибольшее количество зёрен (42,78 шт.), масса зерна с метёлки (1,24 г) и растения (1,33 г) отмечена у линии 4h12. В 2021 г. сложились самые неблагоприятные за годы исследования метеоусловия (ГТК=0,11, сумма эффективных температур 1219,9 °С), урожайность варьировала от 1,01 т/га у стандарта до 1,66 т/га у линии 4h12 с продолжительностью вегетации 75...77 дней. Самые благоприятные условия (ГТК=1,78, сумма эффективных температур 1634 °С) для формирования высокой урожайности до 7,31 т/га у сорта Багет и 7,28 т/га у линии 72h11 отмечали в 2019 г., при продолжительности периода вегетации 97...101 суток. В 2020 г. показатели были средними: урожайность – 3,70...4,88 т/га, сумма эффективных температур – 1327 °С, ГТК – 1,77. Коэффициент корреляции урожайности с ГТК периода от всходов до вымётывания для всех исследованных генотипов был положительным средним и тесным ($r=0,69...0,84$); с ГТК периода от всходов до восковой спелости он изменялся от значимого ($r=0,81...0,84$ у сорта Багет и линии 63h11) до незначимого ($r=0,34...0,73$ у линий 72h11, 4h12, 11h12o и стандарта). Линия 4h12 отнесена к перспективным для использования в производстве по способности формировать в условиях засухи более высокую урожайность, относительно стандарта (+ 0,65 т/га) и других линий (+0,29...+0,52 т/га).

THE INFLUENCE OF METEOROLOGICAL FACTORS ON THE YIELD FORMATION OF NAKED OATS UNDER CONDITIONS OF THE KIROV REGION

N. V. Emeleva, G. A. Batalova

Rudnitsky Federal Agrarian Scientific Center of the North-East,
610007, Kirov, ul. Lenina, 166a
E-mail: Natasort@yandex.ru

In 2019–2021 studies were carried out in the Kirov region in order to study the cultivars and lines of naked oats in terms of yield and elements of the productivity structure at the background of varying temperature and precipitation during the growing season and to identify promising ones for use in production. Four naked oat lines and the cv. Baget were studied in comparison with the standard cv. Vyatsky. Methods of descriptive and correlation analyses and Student's t-test were used. On average, over the years of the study the highest yield was 4.34 t/ha, the largest number of grains 42.78 pcs., the mass of grain per panicle 1.24 g and per plant 1.33 g. In 2021, it was the most unfavorable conditions over the years of the study (GTC = 0.11, the sum of effective temperatures of 1219.9 °C); the yield varied from 1.01 t/ha for the standard to 1.66 t/ha for the 4h12 line which had duration of growing season of 75...77 days. More favorable weather conditions during the growing season (GTC = 1.78, the sum of effective temperatures of 1634 °C) to form a high yield of up to 7.31 t/ha in cv. Baget and 7.28 t/ha in line 72h11 was in 2019, with a duration of growing season of 97...101 days. In 2020, the indicators were average: yield of 3.70...4.88 t/ha, the sum of effective temperatures of 1327 °C, GTC = 1.77. A positive effect was established of the temperature and precipitation, according to the GTC during the period from seedlings to ear formation, on the yield ($r = 0.69...0.84$) for all genotypes studied; and for the period from seedlings to waxy ripeness, it varied from significant ($r = 0.81...0.84$ in cv. Baget and 63h11 line) to insignificant ($r = 0.34...0.73$ in lines 72h11, 4h12, 11h12o and standard). Line 4h12 is classified as promising for use in production in terms of the ability to form significantly higher yields in drought conditions relative to the standard (+ 0.65 t/ha) and other lines (+ 0.29...0.52 t/ha).

Ключевые слова: линия, сорт, урожайность, период вегетации, температура, осадки, масса 1000 зёрен, количество зёрен в метёлке, масса зерна с метёлки

Key words: line, cultivar, yield, growing season, temperature, precipitation, 1000-grain mass, grain number per panicle, grain mass per panicle

Культурный овёс представлен плёнчатыми и голозёрными формами. В России и мире основные площади посевов этой культуры заняты плёнчатыми формами [1]. Овес в РФ в 2022 г. высевали на площади 2178 тыс. га, или 93,1 % к уровню 2021 г. (2335 тыс. га) и 2,5 % от посевных площадей в РФ в 2022 г. В Кировской области он в 2022 г. занимал 108,1 тыс. га, или 104,3 % к пло-

щади в 2021 г. На долю голозёрного овса приходится не более 2,5...3,5 %, до недавнего времени его возделывали на больших площадях только в Японии [2]. В ФАНЦ Северо-Востока созданы сорта овса голозерного Вятский, Першерон, Багет и Бекас, которые допущены для возделывания в производстве (Государственный реестр охраняемых селекционных достижений: офи-

*работа выполнена в рамках ГРАНТ – Селекционно-семеноводческий центр по зерновым и зернобобовым культурам. Приказ Минобрнауки №1438 от 26.12.2019.

Табл. 1. Характеристика гидротермических условий вегетации овса

Месяц	Температура воздуха, °С/± к норме			Осадки, мм/ % к норме		
	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.
Май	13,6/+2,8	12,1/+0,9	15/+3,8	38/68	89/165	56,1/103,9
Июнь	15,8/-0,6	15,3/-2,4	19,9/+3,5	94,7/134	40/57	63,4/78,3
Июль	16,1/-2,2	20,5/+1,6	19,2/+0,3	57,1/68	100/130	73,2/89,3
Август	13,4/-1,8	15,1/-0,5	18,8/+3,2	63/88	61/79	37,6/51,5

циальное издание. М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2022. 624 с.). Овес голозерный более технологичен при переработке в связи с отсутствием плёнки и сокращением затрат на производство [3], он формирует зерно с более высокими показателями качества, но уступает плёнчатому генотипам по массе 1000 зёрен [4]. Для голозерных форм овса характерно повышенное содержание в зерне белка, наличие ненасыщенных жирных кислот, минералов, витаминов, клетчатки, других компонентов [5, 6]. Масло овса нормализует работу сердца, системы кровообращения, холестерина обмен, сдерживает развитие атеросклероза, крахмальные соединения позволяют контролировать уровень сахара в крови диабетиков [6].

Показано влияние условий вегетации на качество зерна. На фоне засухи содержание белка в зерне голозерных сортов Бекас и Багет составило 20,4 %, незаменимых аминокислот в белке – в среднем 424,7 мг и 398,1 мг соответственно, или 118,0 % и 110,6 % к норме FAO/WOS (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). В благоприятных по температуре и осадкам условиях белка в зерне голозерных сортов было всего на 4,3...4,8 % меньше, чем в условиях засухи. В зерне плёнчатого сорта количество белка варьировало от 14,14 до 13,15 % [7]. Высокое качество зерна свидетельствует об актуальности использования овса голозерного для создания продуктов общего и диетического питания, функциональных продуктов для отдельных групп населения, например, с заболеванием целиакия – непереносимостью белка пшеницы [8, 9]. Однако важнейший показатель, определяющий экономическую целесообразность выращивания сорта, – урожайность, которая обусловлена как потенциалом его продуктивности, так и устойчивостью и/или толерантностью к региональным экологическим факторам, чаще всего климатическим (температура и осадки). Недостаточное увлажнение и повышенные температуры приводят к снижению урожайности более чем на 60 % [10]. Для Кировской области, характерно неравномерное распределение тепла и влаги по агроклиматическим зонам и периодам вегетации, ежегодно отмечают 20...35 и до 60 засушливых дней [11].

Цель исследований – изучить сорта и линии овса голозерного по урожайности и элементам структуры продуктивности на фоне варьирования температуры и осадков в период вегетации и выделить перспективные для использования в производстве.

Методика. Исследования проводили в 2019–2021 гг. в Федеральном аграрном научном центре (ФАНЦ) Северо-Востока (г. Киров) на окультуренных дерново-подзолистых среднесуглинистых почвах. Содержание подвижного фосфора и калия (ГОСТ Р 54650-2011) – 350...395 мг/кг и 200...240 мг/кг почвы соответственно, рН солевой вытяжки 5,7...6,1 (ГОСТ 26483-85); содержание органического вещества (ГОСТ 26213-91) – 2,43 %.

Изучали 4 линии голозерного овса, сорт Багет, стандарт – сорт Вятский. Наблюдения, оценки и учёты

(отмечали основные фазы развития растений – всходы, выметывание, восковая спелость, учитывали урожайность и элементы структуры продуктивности) проводили в соответствии с Методикой Государственного сортоиспытания (Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур / под общ. ред. М. А. Федина. Вып. 1, 2. М.: Колос, 1985. 267 с.), гидротермический коэффициент (ГТК) рассчитывали по Г.Т. Селянинову. Обработку экспериментальных данных проводили методами статистического (среднее арифметическое признака и ошибку среднего арифметического ($\bar{x} \pm S(\bar{x})$), вариационного (наименьшая существенная разница при ошибке 5 % – НСР₀₅) и корреляционного (определяли парный коэффициент корреляции r) анализов, t -критерий Стьюдента рассчитывали с использованием пакета прикладных программ AGROS 2.07 и табличного процессора Microsoft Office Excel 2007.

Опытный участок расположен в первом селекционном севообороте, предшественник – чистый пар. Посев овса осуществляли при достижении почвой физической

Табл. 2. Характеристика сортов и линий голозерного овса по урожайности и качеству зерна

Линия, сорт	Год	Урожайность, т/га	Продолжительность периода вегетации, сутки	Масса 1000 зёрен, г	Натура зерна, г/л
Вятский (стандарт)	2019	6,48	97,00	29,80	693
	2020	4,03	74,00	25,00	638
	2021	1,01	75,00	28,20	665
63h11	среднее	3,84	82,00	27,67	665
	2019	5,76	101,00	29,00	633
	2020	4,10	73,00	24,90	608
11h12o	2021	1,27	75,00	27,60	651
	среднее	3,71	83,00	27,17	630
	2019	6,28	97,00	27,60	648
Багет	2020	4,23	74,00	24,50	619
	2021	1,33	77,00	27,60	633
	среднее	3,95	82,67	26,57	633
72h11	2019	7,31	99,00	26,30	646
	2020	4,88	74,00	22,70	615
	2021	1,14	77,00	25,80	676
4h12	среднее	4,44	83,33	24,93	645
	2019	7,28	97,00	29,00	685
	2020	3,70	76,00	24,70	660
НСР ₀₅	2021	1,37	75,00	26,20	657
	среднее	4,12	82,67	26,63	667
	2019	6,83	99,00	28,60	684
	2020	4,53	77,00	27,00	623
	2021	1,66	75,00	30,00	668
	среднее	4,34	83,67	28,53	658
	2019	0,61	1,41	0,24	5
	2020	0,95	1,11	0,50	9
	2021	0,23	2,07	0,14	5

Табл. 3. Зависимость урожайности от ГТК за межфазные периоды вегетации овса (среднее за 2019–2021 гг.)

Межфазный период	Вятский	63h11	11h12o	Багет	72h11	4h12
Всходы–выметывание	0,76*	0,84*	0,83*	0,80*	0,69	0,79*
Выметывание–восковая спелость	-0,98*	-0,70	-0,99*	-0,98*	-0,56	-0,36
Всходы–восковая спелость	0,64	0,81*	0,73*	0,81*	0,34	0,58

*значимо при вероятности 0,99 (число степеней свободы n=12).

спелости в питомнике конкурсного сортоиспытания сеялкой СКС-6-10, рядовым способом с нормой высева 6 млн всхожих семян на 1 га, глубина заделки семян 3...4 см, учётная площадь делянки 10 м², повторность четырёхкратная.

В 2019 г. метеоусловия способствовали проведению посева в ранние сроки и появлению всходов в более ранние сроки (соответственно 30 апреля и 11 мая), при позднем созревании (6...19 августа). Сумма эффективных температур 1219,9 °С была наименьшей за годы исследований, ГТК за период от посева до созревания составил 1,51. От посева до всходов отмечали недостаточное увлажнение и нестабильный температурный фон, среднесуточная температура воздуха была на 1,8...2,2 °С ниже нормы, ГТК составил 0,40. ГТК для периода от всходов до выметывания был равен 1,78 (достаточное увлажнение). В июне выпало 94,7 мм осадков, или 134 % от нормы. В июле количество осадков составило 68 % от нормы, среднесуточная температура достигала 15...17 °С, что было на 1,5...2,5 °С ниже нормы и способствовало формированию озернённой метелки (табл. 1).

Сроки посева в 2020 и 2021 гг. практически не различались – 8 и 9 мая соответственно, то же самое можно отметить и по датам полных всходов – 19...21 и 17...19 мая. Метеоусловия 2020 г. в целом были благоприятны для развития овса. ГТК за период вегетации культуры составил 1,81, сумма эффективных температур – 1327,9 °С, но в фазе цветения в отдельные дни отмечали повышенный температурный фон (до 34 и 35...36 °С) и недостаточное увлажнение.

В период от посева до всходов в 2021 г. ГТК был равен 0,11, наблюдали изреженные слаборазвитые всходы, условия формирования метелки по сочетанию температуры и осадков сложились не благоприятно, а периодические избыточные осадки ливневого характера от выметывания до созревания привели к появлению стеблей второго и третьего сроков кущения, увеличению периода созревания, наличию в посевах при уборке недоразвитых зеленых стеблей. Температура воздуха в третьей декаде июня достигала 34,0 °С, в первой и второй декадах июля – 30,9 °С и 29,7 °С (ГТК = 0,67), в то время как для формирования высокой урожайности

Табл. 4. Характеристика элементов структуры продуктивности перспективных линий и сортов голозерного овса (среднее за 2019–2021 гг.)

Линия, сорт	Год	Продуктивная кустистость, шт.	Количество колосков в метёлке, шт.	Количество зёрен в метёлке, шт.	Масса зерна с метёлки, г.	Масса зерна с ристения, г.
Вятский (стандарт)	2019	1,25 ± 0,13	25,50 ± 0,64	48,30 ± 1,61	1,63 ± 0,05	2,21 ± 0,16
	2020	1,00 ± 0,0	20,65 ± 1,33	31,70 ± 2,12	0,58 ± 0,05	0,58 ± 0,05
	2021	1,20 ± 0,08	27,30 ± 1,30	33,25 ± 2,99	0,97 ± 0,08	1,05 ± 0,10
	среднее	1,15 ± 0,08	24,77 ± 1,99	37,75 ± 5,29	1,10 ± 0,31	1,28 ± 0,48
63h11	2019	1,40 ± 0,14	19,45 ± 1,03*	46,50 ± 2,89	1,34 ± 0,10*	1,64 ± 0,17*
	2020	1,00 ± 0,00	18,75 ± 0,95	35,00 ± 2,61	0,71 ± 0,06	0,71 ± 0,06
	2021	1,10 ± 0,07	24,10 ± 1,41	31,75 ± 3,08	0,95 ± 0,09	1,02 ± 0,10
	среднее	1,17 ± 0,12	20,80 ± 1,68	37,75 ± 4,47	1,00 ± 0,18	1,12 ± 0,27
11h12o	2019	1,50 ± 0,23	19,95 ± 0,78*	53,70 ± 2,59	1,69 ± 0,11	2,44 ± 0,25
	2020	1,10 ± 0,08	15,65 ± 0,67*	26,00 ± 1,66	0,59 ± 0,05	0,66 ± 0,05
	2021	1,10 ± 0,07	19,95 ± 1,03*	27,60 ± 2,08	0,81 ± 0,05	0,84 ± 0,06
	среднее	1,23 ± 0,13	18,57 ± 1,43	35,77 ± 8,98	1,03 ± 0,34	1,31 ± 0,57
Багет	2019	1,30 ± 0,15	31,20 ± 1,16*	45,90 ± 2,78	1,51 ± 0,09	2,43 ± 0,22
	2020	1,30 ± 0,07	19,10 ± 1,09	35,40 ± 2,74	0,81 ± 0,07*	0,85 ± 0,06*
	2021	1,00 ± 0,00	25,77 ± 1,80	27,80 ± 3,96	0,60 ± 0,11*	0,60 ± 0,11*
	среднее	1,20 ± 0,10	25,37 ± 3,50	36,37 ± 5,25	0,98 ± 0,28	1,29 ± 0,57
72h11	2019	1,00 ± 0,11*	20,20 ± 0,91*	46,90 ± 3,19	1,49 ± 0,09	1,77 ± 0,17
	2020	1,10 ± 0,05	25,00 ± 0,87*	47,1 ± 2,24*	1,12 ± 0,05*	1,23 ± 0,05*
	2021	1,00 ± 0,00	21,69 ± 1,26*	30,50 ± 2,88	0,73 ± 0,08*	0,73 ± 0,08*
	среднее	1,03 ± 0,03	22,03 ± 1,42	41,50 ± 5,50	1,11 ± 0,22	1,21 ± 0,30
4h12	2019	1,10 ± 0,10*	26,25 ± 1,04	59,80 ± 2,95*	1,86 ± 0,11	2,15 ± 0,23
	2020	1,00 ± 0,00	24,60 ± 1,31*	37,70 ± 2,33*	0,90 ± 0,05*	0,90 ± 0,05*
	2021	1,00 ± 0,00	25,25 ± 1,00	31,10 ± 3,41	0,95 ± 0,06	0,95 ± 0,06
	среднее	1,03 ± 0,03	24,73 ± 0,48	42,87 ± 8,68	1,24 ± 0,31	1,33 ± 0,41

*различия со стандартом значимы при уровне вероятности 0,95.

овса оптимальная температура в этот период составляет 20...22 °С. Сумма эффективных температур с мая по август включительно была равна 1634,8 °С.

Результаты и обсуждение. Наиболее продолжительный период вегетации овса наблюдали в 2019 г. – от 97 суток у стандарта Вятский до 101 дня у линии 63h11. Условия вегетации способствовали формированию высокой урожайности овса – от 5,76 т/га у линии 63h11 до 7,31 т/га у сорта Багет (табл. 2).

Продолжительность периодов вегетации от всходов до созревания в 2020–2021 гг. в наших исследованиях различались не значительно, тогда как самая высокая урожайность в 2020 г. (4,88 т/га у сорта Багет) была больше, чем в 2021 г., на 3,22 т/га (1,66 т/га у линии 4h12). Это можно объяснить высокими температурами в период цветения и формирования зерна овса в 2021 г. На посевах отмечали стерилизацию пыльцы, до 50 % и более колосков метелки не сформировали зерно.

Масса 1000 зёрен – важный элемент, который влияет на всхожесть и жизнеспособность семян, пищевые и кормовые достоинства зерна. У линии 4h12 средняя за годы исследований величина этого показателя (28,53 г) была больше, чем у стандарта Вятский (27,67 г), на 3,1 %, а по сравнению с сортом Багет (24,93 г) – на 14,4 %. Если рассматривать абсолютные величины, то минимальную в опыте массу 1000 зёрен 22,7 г отмечали в 2020 г. у сорта Багет, максимальную – 30 г, у линии 4h12 в 2021 г.

По результатам исследований изученные линии и сорта голозерного овса отнесены к высоко натурным, с величиной этого показателя в годы исследований более 600 г/л. Максимальное в опыте развитие признака отмечено у стандарта Вятский – 693 г/л в 2019 г., близкие показатели – у линий 72h11 (685 г/л) и 4h12 (684 г/л), что на 8 и 9 г/л меньше, чем у стандарта. В 2020 г. натура зерна стандарта была на 22 г/л меньше, чем у линии 72h11, в 2021 г. наибольший уровень развития признака отмечен у сорта Багет – 676 г/л, что на 11 г/л выше стандарта.

Коэффициент корреляции урожайности с ГТК периода от всходов до выметывания был значимым для большинства изученных генотипов (табл. 3), исключение составила линия 72h11 ($r=0,69$). Отрицательная существенная тесная зависимость установлена между урожайностью и ГТК в период от выметывания до восковой спелости ($r=-0,98...-0,99$).

По средней за годы исследований урожайности выделили сорт Багет (4,44 т/га) и линию 4h12 (4,34 т/га), при этом зависимости формирования продуктивности у линии 4h12 от гидротермических условий не наблюдали, как в целом за период вегетации ($r=0,58$), так и в межфазный период «выметывание – восковая спелость» ($r=-0,36$).

Продуктивная кустистость один из наиболее важных элементов структуры урожая. Известно, что у голозерных форм овса она больше, чем у плёчатых [12]. Средняя за годы изучения величина этого показателя была равна 1,14 шт. (табл. 4). В условиях вегетации 2020–2021 гг. у большинства линий отмечали наименьшую продуктивную кустистость – 1,0...1,1 стебля на растение, в 2019 г. величина этого показателя у линии 1h12o достигала 1,5 шт. на растение. Средняя в исследованиях продуктивная кустистость была выше, чем у стандарта (1,15 шт.), у сорта Багет (1,2 шт.) и линии 1h12o (1,23 шт.).

Среднее количество колосков в метёлке у стандарта Вятский составляло 24,77 шт., на одном уровне оно было у линии 4h12 (24,73 шт.). Количество зёрен в

метёлке – один из наиболее важных признаков, определяющих продуктивность метелки и урожайность сорта. У линии 4h12 оно было значимо выше, чем у стандарта, в 2019 и 2020 гг. Кроме того, для нее показана наибольшая в исследованиях масса зерна с метелки (1,24 г) и растения (1,33 г).

Выводы. Установлено положительное влияние температуры по показателю ГТК на формирование урожайности овса голозерного значимое за период от всходов до выметывания ($r=0,83...0,84$) и от достоверного ($r=0,81$) до не существенного ($r=0,34...0,73$) за период вегетации. Сортовая реакция изученных генотипов на состояние агроклиматических факторов указывает на необходимость использования в производстве сортов способных формировать экономически значимую урожайность вне зависимости от влияния температуры и осадков по годам. По результатам исследований выделена и отнесена к перспективным для использования в производстве линия 4h12 с наибольшей в условиях засухи урожайностью (1,66 т/га, к стандарту + 0,65 т/га). Она передана в 2022 г. на государственное сортоиспытание как сорт Нижегородец.

Литература

1. Баталова Г. А. Ведерников Ю. Е. Селекция и оригинальное семеноводство овса голозерного // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2015. №2 (45). С. 4–9. doi: 10.30766/2072-9081.2015.45.2.04-09.
2. Николаев Н. П., Юсова О. А. Голозерный овес в условиях Западной Сибири // *Сборник материалов 11-й Всероссийской конференции молодых учёных и специалистов*. Краснодар: ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2021. С. 211–216. doi: 10.25230/conf11-2021-211-216.
3. Иванова Ю. С., Фомина М. Н. Урожайность голозерных коллекционных образцов овса голозерного в условиях Северной лесостепи Тюменской области // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2017. № 5 (60). С. 4–8.
4. Особенности подбора сортов овса и ячменя для использования в технологии получения белково-липидно-углеводных композиций со сбалансированным нутриентным составом / Л. В. Гапонова, Т. А. Полежаева, Г. А. Матвеева и др. // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2021. № 4. С. 118–131. doi: 10.36107/spfp.2021.252.
5. Bioactive Components in Oat and Barley Grain as a Promising Breeding Trend for Functional Food Production / N. A. Shvachko, I. G. Loskutov, T. V. Semilet, et al. // *Molecules*. 2021. Vol. 26. No. 8. Article 2260. URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/8/2260> (дата обращения: 09.06.2022). doi: 10.3390/molecules26082260.
6. Analysis of oil composition in cultivars and wild species of oat (*Avena sp.*) / S. Leonova, T. Shelenga, M. Hamberg, et al. // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. Vol. 56. No. 17. P. 7983–7991. doi: 10.1021/jf800761c.
7. Изучение биологической ценности белка зерна овса голозерного / Е. Н. Шабопкина, С. Н. Шевченко, Г. А. Баталова и др. // *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2020. №2 (34). С. 78–83. doi: 10.24411/2309-348X-2020-11173.
8. Singh R., De S., Belkheir A. *Avena sativa* (Oat), a potential nutraceutical and therapeutic agent: an overview // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2013. Vol. 53. No. 2. P. 126–144. doi: 10.1080/10408398.2010.526725.

9. Многоликая проблема непереносимости глютена / М. А. Ливзан, М. Ф. Осипенко, Н. В. Заякина и др. // *Клиническая медицина*. 2018. Т. 96 (2). С. 123–128. doi: 10.18821/0023-2149-2018-96-2-123-128.
10. Admas S., Tesfaye K. Genotype-by-environment interaction and yield stability analysis in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) genotypes in North Shewa, Ethiopia // *Acta Universitatis Sapientiae. Agriculture and Environment*. 2017. No 9. P. 82–94. doi: 10.1515/ausae-2017-0008.
11. Переведенцев Ю. П., Френкель М. О., Шаймарданов М. З. Современные изменения климатических условий и ресурсов Кировской области / науч. ред. Э.П. Наумов. Казань: Казан. гос. ун-т, 2010. 242 с.
12. Магарамов Б. Г., Муслимова И. Б., Куркиев К. У. Параметры продуктивной кустистости овса в зависимости от агротехнических приемов и условий выращивания // *Научная жизнь*. 2019. Т.14 № 9 (97). С. 1424–1431. doi: 10.35679/1991-9476-2019-14-9-1424-1431.

Поступила в редакцию 27.10.2022
После доработки 30.11.2022
Принята к публикации 28.12.2022

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ^{137}Cs , БОТАНИЧЕСКОГО СОСТАВА И ПРОДУКТИВНОСТИ БОБОВО-ЗЛАКОВЫХ СМЕСЕЙ В ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

С. И. Воронов¹, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН,
Е. П. Князева², **А. Н. Пикун²**, кандидат сельскохозяйственных наук,
В. К. Кузнецов³, доктор биологических наук

¹Федеральный исследовательский центр «Немчиновка»,
 143026, Московская обл., Одинцовский р-н, пос. Новоивановское, ул. Калинина, 1
 E-mail: mosniish@yandex.ru

²Тульский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – филиал Федерального исследовательского центра «Немчиновка»,

301493, Тульская обл., Плавский р-н, пос. Молочные Дворы, ул. Садовая, 7
 E-mail: anzpikul@mail.ru

³Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии,
 249032, Калужская обл., Обнинск, Киевское ш., 109 км
 E-mail: vkkuzn@yandex.ru

Исследования проводили с целью подбора травосмесей для улучшения сенокосных и пастбищных угодий на овражно-балочных системах, подвергшихся радиоактивному загрязнению, оценки агротехнических и агрохимических приемов для повышения продуктивности и восстановления радиоактивно загрязненных склоновых кормовых угодий, а также снижения накопления ^{137}Cs в травостое. Работу выполняли в 2003–2010 гг. и 2019–2021 гг. в Тульской области на среднесуглинистом выщелоченном черноземе. В первом опыте изучали урожайность и динамику накопления ^{137}Cs многолетними травами. Схема опыта предусматривала варианты без удобрений и ежегодное внесение $\text{N}_{60}\text{P}_{60}\text{K}_{60}$. Объектами исследований были клевер луговой, клевер ползучий, люцерна изменчивая, козлятник восточный, люцерна рогатая, костреца безостый, овсяница луговая, тимофеевка луговая. Наиболее продуктивной оказалась смесь из клевера лугового, люцерны изменчивой и костреца безостого (10,5 т/га сухого вещества). Содержание ^{137}Cs в воздушно-сухой массе злаково-бобовых травосмесей находилось в пределах от 8,3 до 40,1 Бк/кг. Многолетние бобовые травы выносили в 2...3 раза больше ^{137}Cs , чем злаковые. Во втором опыте объектами исследования были одновидовые посева костреца безостого и его смеси с козлятником восточным с применением минеральных и микробиологических удобрений. Внесение больших доз азотных удобрений увеличивало накопление ^{137}Cs в травостое. При их дробном использовании такого увеличения удается избежать. Комплексное применение азотных и микробиологических удобрений способствует 2-кратному увеличению содержания ^{137}Cs в травостое. Наименьшие коэффициенты накопления ^{137}Cs отмечены в вариантах с внесением двойного суперфосфата с хлоридом калия и борофоски.

DYNAMICS OF ACCUMULATION OF ^{137}Cs , BOTANICAL COMPOSITION AND PRODUCTIVITY OF LEGUME-CEREAL MIXTURES IN THE TULA REGION

S. I. Voronov¹, **E. P. Knyazeva²**, **A. N. Pikul²**, **V. K. Kuznetsov³**

¹Federal Research Center «Nemchinovka»,
 143026, Moskovskaya obl., Odintsovskii r-n, pos. Novoivanovskoye, ul. Kalinina, 1
 E-mail: mosniish@yandex.ru

²Tula Scientific Research Institute of Agriculture – Federal research centre branch «Nemchinovka»,
 301493, Tul'skaya obl., Plavskiy r-n, pos. Molochnie Dvory, ul. Sadovaya, 7
 E-mail: anzpikul@mail.ru

³All-Russian Research Institute of Radiology and Agroecology,
 249032, Kaluzhskaya obl., Obninsk, Kievskoe sh., 109 km
 E-mail: vkkuzn@yandex.ru

The purpose of the research is to select grass mixtures to improve hay and pasture lands on ravine – beam systems that have been exposed to radioactive contamination, to evaluate agrotechnical and agrochemical techniques to increase productivity and restore radioactively contaminated slope forage lands and reduce the accumulation of ^{137}Cs in the grass. The work was carried out in 2003–2010 and 2019–2021 in the Plavsky district of the Tula region on medium loamy leached chernozem. In the first experiment, the yield and dynamics of accumulation of ^{137}Cs by perennial grasses were studied. Perennial herbs were grown in variants without fertilizers and with annual application of $\text{N}_{60}\text{P}_{60}\text{K}_{60}$. The objects of research were meadow clover, creeping clover, variable alfalfa, eastern goat, horned lyadvenets, boneless rump, meadow fescue, meadow timothy. The most productive in the experiments was a mixture of meadow clover, variable alfalfa and boneless stalk (10,5 t/ha of dry matter). The content of ^{137}Cs in the air-dry mass of cereal-legume grass mixtures ranged from 8,3 to 40,1 Bq/kg. Perennial leguminous grasses bore 2...3 times more ^{137}Cs than cereals. In the second experiment, the objects of the study were single-species crops of boneless stalk and its mixture with eastern goat with the use of mineral and microbiological fertilizers. As a result, it was found that the introduction of large doses of nitrogen fertilizers increased the accumulation of ^{137}Cs in the herbage. With fractional fertilization, such an increase can be avoided. The complex application of nitrogen and microbiological fertilizers contributes to a 2-fold increase in the content of ^{137}Cs in the herbage. In the experiments, the lowest values of the accumulation coefficients of ^{137}Cs were noted in the variants with the addition of double superphosphate with potassium chloride and borofoski.

Ключевые слова: сенокосы, пастбища, старовозрастные травостои, бобово-злаковые смеси, продуктивность, радиоактивное загрязнение.

Key words: hayfields, pastures, old-age herbage, bean-cereal mixtures, productivity, radioactive contamination.

Земли Тульского научно-исследовательского института сельского хозяйства (НИИСХ) находятся на Плавском плато Среднерусской возвышенности. В большинстве своем они расположены на овражно-балочных системах и частично в поймах небольших рек, поскольку территория сильно распахана (до 70...80 %). Изреженный травостой не может противостоять эрозионным процессам во время интенсивного таяния снега и летних ливней. Для решения этой проблемы в 80-е гг. прошлого века сотрудники Тульской государственной опытной станции (сегодня – Тульский НИИСХ – филиал ФИЦ «Немчиновка») провели коренное и поверхностное улучшение оврагов (более 1000 га), а также залужение прилегающих к ним эродированных участков пашни [1].

После аварии на Чернобыльской АЭС в 1986 г. произошло загрязнение радионуклидами, преимущественно ^{137}Cs и в меньшей степени ^{90}Sr [2]. С тех пор почву склонов не подвергали механической обработке. С 1988 г. на целинных участках Тульского НИИСХ проводят исследования с целью анализа параметров миграции и оценки динамики распределения ^{137}Cs по профилю черноземных почв [3].

В соответствии с экологической доктриной Российской Федерации (№ 1225-р от 31 августа 2002 г.) [4] и Указом Президента РФ от 01.12.2016 г. № 642 [5] сохранение ландшафтного потенциала и переход к высокопродуктивному и экологически безопасному сельскому хозяйству – приоритетные направления научно-технологического развития Российской Федерации.

Инвентаризация пастбищных и сенокосных угодий показала, что спустя 40 лет после их залужения преобладают злаково-разнотравные травостои. Повсеместно присутствует кострец безостый, на дне балок его доля составляет от 30,0...40,4 до 92,7...98,0 %. Под травостоем не вносили азотные удобрения, способные повысить обеспеченность кормов протеином [6].

При содержании в кормах 10,5...11,0 МДж/кг обменной энергии, 15...18 % сырого протеина в сухом веществе злаковых трав и 18...23 % в бобовых можно получать до 20...25 кг молока в сутки даже без концентратов. Высокое содержание протеина в кормах можно обеспечить путем включения в состав травостоев многолетних бобовых видов – люцерны изменчивой, клевера лугового, козлятника восточного [7, 8].

В последние годы установлено, что в эрозионных ландшафтах происходит вторичное перераспределение ^{137}Cs . У подножий склонов, на дне ложбин-отвершков и центральной части дна балок отмечается аккумуляция ^{137}Cs , которая приводит к увеличению удельной активности и общих запасов радионуклида в почве. На верхних элементах склонов происходит обратный процесс, то есть естественное самоочищение [9, 10, 11].

Агротехнические приемы направлены на изменение распределения радионуклидов в почвенном профиле, а агрохимические приводят к изменению кислотности почв, повышению их плодородия, увеличению сорбционной способности или концентрации конкурентных ионов [12, 13, 14].

Цель исследований – подбор травосмесей для улучшения сенокосных и пастбищных угодий на овражно-балочных системах, подвергшихся радиоактивному загрязнению, оценка агротехнических и агрохимических приемов для повышения продуктивности и восстановления загрязненных склоновых кормовых угодий и снижения накопления ^{137}Cs в травостое.

Методика. Работу выполняли в Тульском НИИСХ в двух полевых опытах в 2003–2010 и 2019–2021 гг. на

среднесуглинистом выщелоченном черноземе. Содержание гумуса в почве первого опыта составляло 4,5...5,8 %, P_2O_5 – 180...210 мг/кг, K_2O – 190...220 мг/кг, $\text{pH}_{\text{сол}}$ – 5,3...5,6, плотность загрязнения ^{137}Cs – 204...224 Бк/м². Схема этого опыта включала восемь вариантов травосмесей с различными нормами высева семян 100 %-ной посевной годности: 1) кострец безостый (сорт Моршанский 760, 20 кг/га) – контроль; 2) клевер луговой (ВИК 84, 6 кг/га) + люцерна изменчивая (Сарга, 6 кг/га) + кострец безостый (Моршанский 760, 10 кг/га); 3) козлятник восточный (Гале, 14 кг/га) + кострец безостый (Моршанский 760, 10 кг/га); 4) клевер ползучий (Волат, 4 кг/га) + райграсс пастбищный (Моршанский 1, 8 кг/га); 5) люцерна изменчивая (Пастбищная 88, 6 кг/га) + райграсс пастбищный (Моршанский 1, 8 кг/га); 6) лядвенец рогатый (Солнышко, 6 кг/га) + райграсс пастбищный (Моршанский 1, 8 кг/га); 7) клевер ползучий (Волат, 3 кг/га) + люцерна изменчивая (Пастбищная 88, 4 кг/га) + лядвенец рогатый (Солнышко, 4 кг/га) + райграсс пастбищный (Моршанский 1, 6 кг/га); 8) клевер ползучий (Волат, 3 кг/га) + клевер луговой (ВИК 84, 5 кг/га) + тимopheевка луговая (Московская 1480, 5 кг/га) + овсяница луговая (Киреевская местная, 10 кг/га). Травосмеси № 2 и № 3 – сенокосной, № 4, № 5, № 6 и № 7 – пастбищной, № 8 – сенокосно-пастбищной назначения.

Многолетние травы выращивали без удобрений и при ежегодном внесении $\text{N}_{60}\text{P}_{60}\text{K}_{60}$. Общая площадь делянок составляла 24 м², учетная – 10 м², повторность трехкратная. Урожайность определяли путем прямого взвешивания всей массы трав с учетной делянки за два укоса.

В микрополевым эксперименте, заложенном в 2019 г., исследования проводили на склоне балки западной экспозиции с аналогичным первому опыту почвенным покровом и средним уклоном 8...10°. Делянки размером 2 × 2 м располагали полосами в верхней, средней и нижней частях склона и на дне балки. Схема опыта предусматривала семь вариантов внесения удобрения: 1) без удобрений; 2) $\text{N}_{90}\text{P}_{60}\text{K}_{60}$ весной; 3) $\text{N}_{45}\text{P}_{30}\text{K}_{30}$ весной и после I укоса; 4) $\text{P}_{60}\text{K}_{60}$ весной; 5) N_{45} + азотовит + фосфатовит весной и после I укоса; 6) азотовит + фосфатовит весной и после I укоса; 7) борофоска (В). Микробиологические удобрения (азотовит и фосфатовит) вносили в период вегетации: обработку проводили в ранние фазы роста и развития культуры с нормой расхода 1,0 л/га. Опыт был заложен на двух фонах: старовозрастной травостой, представленный преимущественно кострцом безостым (1-7) и кострцом безостым с подсевом в дернину 10 кг/га козлятника восточного (1¹-7¹). Удобрения применяли, как за один прием весной в период отрастания трав (варианты 2, 4, 7 и 2¹, 4¹, 7¹), так и дробно (3, 5 и 3¹, 5¹) – весной и после 1-го укоса трав. Ниже каждой удобринной полосы оставалась полоса без удобрений шириной более 2 м.

В зависимости от геоморфологической части склона агрохимические показатели варьировали в следующем диапазоне: гумус – 6,2...8,9 %, P_2O_5 – 145...220 мг/кг почвы; K_2O – 179,5...227,1 мг/кг; $\text{pH}_{\text{сол}}$ – 5,6...5,8. Среднее содержание ^{137}Cs в почве верхних элементов рельефа и дна оврага находилось в пределах 560 Бк/кг, середины склона – 650 Бк/кг, подошвы – 903 Бк/кг. На дне оврага отмечали меньшую плотность загрязнения ^{137}Cs из-за экранирования наиболее загрязненных слоев почвы намытыми позднее с меньшим содержанием ^{137}Cs .

Пробы почв для определения содержания ^{137}Cs и агрохимических показателей отбирали в слое 0...20 см. Учет зеленой массы проводили со всей площади делянки. Из нее отбирали снопы размером около 1 кг для

Табл. 1. Продуктивность травосмесей различного хозяйственного назначения (средняя за 2003–2010 гг.)

Вариант	Сухое вещество, т/га	Сырой протеин, т/га	Обменная энергия, ГДЖ/га	Прибавка сухого вещества от N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀ , т/га
1. Кострец безостый (контроль)	8,9±1,2	1,31±0,1	89,8±9,9	1,4±0,2
2. Клевер луговой + люцерна + кострец	10,5±1,6	1,50±0,2	101,1±12,1	1,2±0,2
3. Козлятник восточный + кострец	9,1±1,3	1,55±0,2	94,0±11,3	2,1±0,3
4. Клевер ползучий + райграс пастбищный	6,5±1,2	1,04±0,1	62,1±6,8	1,2±0,2
5. Люцерна пастбищная + райграс	8,7±1,6	1,32±0,2	81,2±9,7	1,4±0,2
6. Лядвенец рогатый + райграс	7,1±1,3	1,07±0,2	65,3±8,5	1,4±0,1
7. Клевер ползучий + люцерна + лядвенец + райграс	6,9±1,2	1,09±0,1	67,0±10,1	1,1±0,1
8. Клевер луговой + клевер ползучий + тимофеевка + овсяница	7,5±1,3	1,09±0,1	74,1±10,4	1,4±0,2

определения ¹³⁷Cs. Агрохимический анализ почвенных образцов, определение содержания ¹³⁷Cs в почвенных и растительных образцах проводили в аккредитованных испытательных лабораториях ВНИИРАЭ.

Результаты и обсуждение. В опыте 1 среди травосмесей сенокосного назначения в начальный пятилетний период использования наиболее продуктивной оказалась смесь клевер луговой + люцерна изменчивая + кострец безостый. При этом в первые два года высокая урожайность формировалась благодаря клеверу луговому, а в последующие – люцерне и кострецу безостому. В год посева ботанический состав смеси на 34 % (по массе) был представлен клевером луговым, на 42 % люцерной и на 24 % кострецом безостым. К четвертому году пользования в травостое доминировал кострец безостый (75 %), люцерна составляла около 20 %, клевер луговой – 5 %. Люцерна полностью выпала из травостоя на седьмой год жизни трав. Средняя урожайность этой смеси за 8 лет составила 10,5 т/га сухого вещества, а прибавка от применения минеральных удобрений нормой N₆₀P₆₀K₆₀ по годам исследований была равна 0,1...4,2 т/га сухого вещества или в среднем за 8 лет – 1,2 т/га (табл. 1).

Двойная смесь сенокосного назначения, состоявшая в год посева из 60 % козлятника и 40 % костреца безостого, в первый год жизни из-за медленного начального развития козлятника существенно уступала

по продуктивности травосмеси клевер луговой + люцерна изменчивая + кострец безостый и одновидовому посеву костреца безостого (контроль), а превзошла их только на шестой год жизни. К этому времени бобовые компоненты первой смеси уже выпали из травостоя, в то время как на долю козлятника восточного во второй травосмеси приходилось около 40 %. Даже на восьмой год жизни она составляла 25...30 %, в результате чего продуктивность этой смеси в условиях засушливого вегетационного периода была значительно выше, чем у всех остальных. Средняя урожайность за 8 лет составила 9,1 т/га сухого вещества, прибавка от минеральных удобрений варьировала в зависимости от погодных условий в пределах 1,2...3,4 т/га.

Из травосмесей пастбищного назначения, начиная со второго по шестой год жизни включительно, лидировала смесь люцерна + райграс. Средняя урожайность ее за первые шесть лет жизни составила 10,7 т/га сухого вещества, за 8 лет – 8,7 т/га, выход сырого протеина – 1,32 т/га.

Продуктивность двойных смесей райграса пастбищного с клевером ползучим и лядвенцем рогатым была примерно равнозначной (6,5 и 7,1 т/га сухого вещества за 8 лет соответственно). После пяти-шести лет использования они были почти полностью представлены райграсом пастбищным (см. табл. 1).

Табл. 2. Содержание ¹³⁷Cs в почве и травосмеси с 2003 по 2010 гг.

Травосмесь	Почва, Бк/кг	Год								Среднее
		2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	
1. Кострец безостый (контроль)	713±35	<u>9,1*</u> 1,3	<u>8,7</u> 1,2	<u>10,1</u> 1,4	<u>10,2</u> 1,4	<u>8,3</u> 1,2	<u>9,0</u> 1,3	<u>8,7</u> 1,2	<u>8,9</u> 1,3	<u>9,1±0,7</u> 1,3±0,1
2. Клевер луговой + люцерна + кострец	700±28	<u>14,1</u> 2,0	<u>16,0</u> 2,3	<u>14,8</u> 2,1	<u>16,4</u> 2,3	<u>14,7</u> 2,1	<u>14,2</u> 2,0	<u>13,2</u> 1,9	<u>12,8</u> 1,8	<u>14,5±1,2</u> 2,1±0,2
3. Козлятник восточный + кострец	723±41	<u>17,9</u> 2,5	<u>18,7</u> 2,6	<u>18,2</u> 2,5	<u>14,7</u> 2,0	<u>16,6</u> 2,3	<u>14,1</u> 2,0	<u>13,8</u> 1,9	<u>13,7</u> 1,9	<u>16,0±2,1</u> 2,2±0,3
4. Клевер ползучий + райграс пастбищный	716±32	<u>17,8</u> 2,5	<u>17,7</u> 2,5	<u>19,6</u> 2,7	<u>18,6</u> 2,6	<u>18,2</u> 2,5	<u>17,6</u> 2,5	<u>16,8</u> 2,4	<u>14,1</u> 2,0	<u>17,6±1,6</u> 2,5±0,2
5. Люцерна пастбищная + райграс	706±37	<u>19,2</u> 2,7	<u>21,7</u> 3,1	<u>21,0</u> 3,0	<u>25,3</u> 3,6	<u>17,9</u> 2,5	<u>16,8</u> 2,4	<u>15,4</u> 2,2	<u>15,2</u> 2,2	<u>19,1±3,5</u> 2,7±0,5
6. Лядвенец рогатый + райграс	680±24	<u>26,7</u> 3,9	<u>23,7</u> 3,5	<u>21,0</u> 3,1	<u>27,8</u> 4,1	<u>17,8</u> 2,6	<u>16,9</u> 2,5	<u>14,1</u> 2,1	<u>12,7</u> 1,9	<u>20,1±5,6</u> 3,0±0,8
7. Клевер ползучий + люцерна + лядвенец + райграс	690±33	<u>40,1</u> 5,8	<u>30,2</u> 4,4	<u>26,6</u> 3,9	<u>26,5</u> 3,8	<u>19,7</u> 2,9	<u>18,7</u> 2,7	<u>16,3</u> 2,4	<u>15,8</u> 2,3	<u>24,2±8,3</u> 3,5±1,2
8. Клевер луговой + клевер ползучий + тимофеевка + овсяница	726±42	<u>21,0</u> 2,9	<u>17,8</u> 2,5	<u>12,7</u> 1,7	<u>9,7</u> 1,3	<u>10,8</u> 1,5	<u>13,8</u> 1,9	<u>10,6</u> 1,5	<u>9,6</u> 1,3	<u>13,3±4,1</u> 1,8±0,6

* в числителе – содержание в воздушно-сухом веществе травосмесей, Бк/кг, в знаменателе – коэффициент накопления ¹³⁷Cs, n × 10⁻².

Табл. 3. Средняя урожайность и накопление ¹³⁷Cs в травостое кормовых культур (в среднем за 2019–2021 гг.)

Вариант	Содержание ¹³⁷ Cs					Урожайность травостоя, т/га			
	почва, Бк/кг	травостой				зеленая масса		сухое вещество	
		кострец безостый		кострец + козлятник восточный		кострец безостый	кострец + козлятник восточный	кострец безостый	кострец + козлятник восточный
		Бк/кг	Кн, п×10 ⁻³	Бк/кг	Кн, п×10 ⁻³				
1	733	3,2	4,8	4,1	6,2	10,04	10,10	3,78	3,80
2	732	4,8	7,2	6,1	9,2	15,50	15,94	5,95	6,00
3	724	3,7	5,6	5,2	8,1	16,34	16,86	6,43	6,40
4	650	3,3	4,9	3,6	5,4	13,59	13,67	5,30	5,42
5	610	6,2	9,3	8,1	12,2	13,40	13,46	4,96	5,22
6	595	4,4	6,7	5,3	8,1	11,94	12,02	4,44	4,48
7	633	3,0	4,4	3,7	5,5	12,81	13,78	4,74	5,18
НСР _{0,5}		1,8	2,8	3,0	4,8	2,28	4,90	1,32	2,22

Четырехкомпонентные смеси клевер ползучий + люцерна + лядвенец + райграс и клевер луговой + клевер ползучий + тимофеевка + овсяница, в которых злаковые травы были представлены райграсом пастбищным, тимофеевкой и овсяницей, не имели существенных преимуществ перед двойными – средняя урожайность сухого вещества за восемь лет составила 6,9 и 7,5 т/га соответственно, средний выход сырого протеина – 1,09 т/га. Аналогично двойным смесям после пяти-шести лет использования они были представлены в основном или райграсом, или тимофеевкой с овсяницей.

Средняя за 8 лет урожайность одновидового посева костреца безостого в контроле составила 8,9 т/га сухого вещества, выход сырого протеина – 1,31 т/га. При дефиците семян многолетних бобовых трав залужение эродированных и неиспользуемых в последние годы пахотных земель одновидовыми посевами костреца безостого можно считать оправданным.

Содержание ¹³⁷Cs в почве изменялось от 680 до 726 Бк/кг, плотность загрязнения – от 204 до 218 кБк/м² (табл. 2). В воздушно-сухой массе злаково-бобовых травосмесей оно варьировало от 8,3 до 40,1 Бк/кг. Многолетние бобовые травы выносили в 2...3 раза больше ¹³⁷Cs, чем злаковые. При этом максимальное содержание ¹³⁷Cs в бобово-злаковых травосмесях наблюдали в первые 5 лет, начиная с шестого года, по мере выпадения бобовых компонентов из травостоя, происходило снижение накопления ¹³⁷Cs.

Коэффициент накопления (Кн) соотносит содержание ¹³⁷Cs (Бк/кг) в растениях с его количеством в почве и характеризует интенсивность накопления радионуклидов растениями корневым путем [15]. Наименьшая величина этого показателя была характерна для костреца безостого (контроль), как представителя злаковых трав – $1,2 \times 10^{-2}$. У бобово-злаковых смесей в первые 6 лет жизни отмечали более высокие величины Кн. Причем в первые 2 года наибольшие коэффициенты накопления наблюдали в смеси № 7 – $5,8 \times 10^{-2}$ и $4,4 \times 10^{-2}$. На седьмой год в связи с выпадением бобовых компонентов Кн ¹³⁷Cs варьировали от $1,3 \times 10^{-2}$ (смесь № 8) до $2,2 \times 10^{-2}$ (смесь № 5).

К восьмому году жизни основными компонентами смесей оставались злаковые травы: кострец безостый, райграс пастбищный, тимофеевка и овсяница луговые, которые накапливали ¹³⁷Cs в минимальных количествах. Исключение составляла смесь костреца безостого с козлятником восточным, доля которого в ней была не менее 25...30 %. При этом в первые 2...3 года Кн ¹³⁷Cs в травостое козлятника находился на уровне $7,8 \times 10^{-2}$, что

сопоставимо с накоплением радионуклидов в надземной массе клевера и люцерны. В последующие 5...7 лет Кн в травостое старовозрастного козлятника снизился до $3,2 \times 10^{-2}$, что связано с биологическими особенностями культуры и активным заглуглением ее корневой системы, вследствие чего основное количество элементов питания и, соответственно, радионуклидов поступало из нижних, менее загрязненных слоев почвы.

Во втором эксперименте по сравнительному изучению одновидовых посевов костреца безостого и его травосмеси с козлятником восточным с внесением минеральных и микробиологических удобрений максимальную урожайность сухого вещества отмечали в вариантах 2 (15,50 т/га), 2¹ (15,94 т/га), 3 (16,34 т/га), 3¹ (16,86 т/га) с внесением высоких доз азотных удобрений, наименьшую – в вариантах 6 (11,94 т/га) и 6¹ (12,02 т/га) с использованием только микроудобрений (табл. 3). Наибольшие величины Кн ¹³⁷Cs были зафиксированы в вариантах 5 (N₄₅ + азотовит + фосфатовит при 2-кратном внесении) и 2 (N₉₀P₆₀K₆₀ при весеннем внесении): $9,3 \times 10^{-3}$; $12,2 \times 10^{-3}$ и $7,2 \times 10^{-3}$; $9,2 \times 10^{-3}$ соответственно. В вариантах 7 и 4 Кн ¹³⁷Cs оказались наименьшими: $4,4 \times 10^{-3}$; $5,5 \times 10^{-3}$ и $4,9 \times 10^{-3}$; $5,4 \times 10^{-3}$.

Козлятник восточный характеризуется более высоким накоплением ¹³⁷Cs, относительно костреца безостого, в связи с чем Кн ¹³⁷Cs в травосмеси кострец + козлятник было в 1,1...1,4 раза выше, по сравнению с однокомпонентным злаковым посевом.

Использование высоких доз азотных удобрений способствовало росту накопления ¹³⁷Cs в травостое. При дробном внесении (вариант 3) отрицательные изменения радиологических показателей были минимальными. При комплексном применении азотных и микробиологических удобрений (вариант 5) отмечено 2-кратное увеличение содержания ¹³⁷Cs, относительно контроля без удобрений. Раздельное внесение микробиологических удобрений (вариант 6) способствует, по всей видимости, увеличению степени обеспеченности растений азотом и повышению накопления ¹³⁷Cs в биомассе в 1,3...1,4 раза.

Наименьшими в опыте величинами Кн ¹³⁷Cs характеризовалась продукция в вариантах 4 и 7 с внесением двойного суперфосфата и хлорида калия P₆₀K₆₀ или борофоски P₃₀K₄₈ (В).

Выводы. В результате выполненных исследований показана необходимость дифференцированного подхода к проведению агрохимических мероприятий, включая применение микробиологических препаратов на геоморфологически разнородных склоновых участ-

ках, подвергшихся радиоактивному загрязнению. На среднесуглинистом выщелоченном черноземе Тульской области наиболее продуктивной оказалась смесь из клевера лугового, люцерны изменчивой и костреча безостого (10,5 т/га сухого вещества). Содержание ^{137}Cs в воздушно-сухой массе злаково-бобовых травосмесей находилось в пределах от 8,3 до 40,1 Бк/кг. Многолетние бобовые травы выносили в 2...3 раза больше ^{137}Cs , чем злаковые. Внесение больших доз азотных удобрений увеличивает накопление ^{137}Cs в травостое. При их дробном применении такого увеличения удается избежать. Совместное использование азотных и микробиологических удобрений приводит к 2-кратному увеличению содержания ^{137}Cs в травостое. Наименьшие коэффициенты накопления ^{137}Cs отмечены при внесении двойного суперфосфата с хлоридом калия $\text{P}_{30}\text{K}_{48}$ (В).

Литература

1. Князева Е. П., Коломейченко В. В. Оценка кормовых угодий на овражно-балочных системах среднерусской возвышенности // *Российская сельскохозяйственная наука*. 2018. № 5. С. 36–40.
2. Российский национальный доклад: 35 лет Чернобыльской аварии. Итоги и перспективы преодоления ее последствий в России. 1986–2021 / под общ. ред. Л. А. Большова. М.: Академ-Принт, 2021. 104 с.
3. Макаров В. И. Использование овражно-балочных лугов, загрязненных радионуклидами, в качестве пастбищ и сенокосов // *Роль культурных пастбищ в развитии молочного скотоводства Нечерноземной зоны России в современных условиях: сб. научных трудов / под ред. Н. А. Ларетина, А. А. Кутузовой, В. М. Косолапова*. М.: Угрешская типография, 2010. С. 199–204.
4. Экологическая доктрина Российской Федерации (№ 1225-р от 31 августа 2002 г.). URL: <http://government.ru/docs/all/43014> (дата обращения: 28.06.2022).
5. Указ Президента Российской Федерации от 01.12.2016 № 642 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации». URL: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201612010007> (дата обращения: 28.06.2022).
6. Князева Е. П., Коломейченко В. В., Кузнецов В. К. Современное состояние природных кормовых угодий Плавского плато Среднерусской возвышенности в условиях радиоактивного загрязнения // *Кормопроизводство*. 2016. № 9. С. 12–17.
7. Косолапов В. М., Трофимов И. А. Исследования по кормопроизводству, экологии и рациональному природопользованию // *Кормопроизводство*. 2015. № 7. С. 3–9.
8. Макаров В. И., Калашиников К. Г. Многолетние травы для южных районов Нечерноземной зоны. Плавск: ГНУ Тульский НИИСХ. 2009. 92 с.
9. Атлас современных и прогнозных аспектов последствий аварии на Чернобыльской АЭС на пострадавших территориях России и Беларуси (АСПА Россия-Беларусь) / под ред. Ю. А. Израэля и И. М. Богдевича. М.; Минск: Фонд Инносфера-НИА Природа, 2009. 140 с.
10. Линник В. Г. Ландшафтная дифференциация техногенных радионуклидов. М.: РАН, 2018. 372 с.
11. Цыбулько Н. Н., Черныш А. Ф. Горизонтальная миграция радионуклидов в эрозийных агроландшафтах // *Проблемы радиологии загрязненных территорий: юбилейный тематический сборник*. Гомель: Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт радиологии», 2006. Вып. 2. С. 221–233.
12. Реабилитационные мероприятия на сельскохозяйственных угодьях, подвергшихся радиоактивному загрязнению / А. Н. Ратников, Г. И. Попова, Д. Г. Свириденко и др. // *Известия ТСХА*. 2019. Вып. 2. С. 18–34.
13. Авария на Чернобыльской АЭС: Защитные и реабилитационные мероприятия в сельском хозяйстве / С. В. Фесенко, Н. И. Санжарова, Н. Н. Исамов и др. // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2021. Т. 61. № 3. С. 261–276.
14. Алексахин Р. М. Мероприятия в области земледелия и агрохимии при реабилитации радиоактивно загрязненных территорий // *Плодородие*. 2016. № 5 (92). С. 3–34.
15. Кузнецов В. К., Санжарова Н. И. Методологические основы организации защитных мероприятий ландшафтно-экологической направленности на радиоактивно загрязненных территориях // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2016. № 1. С. 90–101.

Поступила в редакцию 11.07.2022

После доработки 18.09.2022

Принята к публикации 21.11.2022

УРОЖАЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ РОСТСТИМУЛИРУЮЩЕЙ РИЗОСФЕРНОЙ БАКТЕРИИ НА ЗАГРЯЗНЕННОЙ НИКЕЛЕМ ПОЧВЕ*

В.П. Шабаяев, доктор биологических наук,
В.Е. Остроумов, старший научный сотрудник

*Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
142290, Московская обл., Пушкино, ул. Институтская, 2
E-mail: vpsh@rambler.ru*

*В вегетационном опыте изучали влияние внесения стимулирующей рост яровой пшеницы ризосферной бактерии *Pseudomonas fluorescens* 20 на урожай. Растения выращивали до полной спелости при загрязнении агросерой почвы никелем в виде $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ в дозе 200 мг Ni/kg почвы на фоне внесения NPK удобрений. После уборки урожая определяли содержание Ni и питательных элементов N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn и Cu в зерне, соломе и корнях. Содержание N определяли феноловым методом. Содержание Ni и других зольных элементов после сжигания растительного материала устанавливали методами эмиссионно-оптической спектроскопии индуктивно-связанной плазмы и пламенной фотометрии. При бактериальной инокуляции установлена устойчивость растений к токсическому действию Ni. Применение бактерии устраняло фитотоксичность тяжелого металла и обеспечивало формирование такой же биомассы, в том числе зерна, как и в контрольном варианте (не инокулированные растения, не подвергнутые Ni стрессу). Устойчивость растений, инокулированных бактерией, к токсическому действию Ni обусловлена усиленным ростом корневой системы и увеличением содержания и накопления Ni в корнях. Внесение бактерии также улучшало минеральное питание растений – увеличивало вынос питательных элементов из загрязненной почвы. Это происходило вследствие стимуляции роста и увеличения массы растений в целом без существенных изменений содержания большинства элементов в надземных органах и корнях. Бактерия усиливала фитоэкстракцию тяжелого металла (очистку почвы) – увеличивала вынос надземными органами Ni без значимых изменений его содержания в зерне и соломе. Это происходило без существенных изменений реакции почвенной среды и, вероятно, было обусловлено образованием бактериальных сидерофоров.*

SPRING WHEAT YIELD UNDER APPLICATION OF GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIUM IN SOIL CONTAMINATED WITH NICKEL

V.P. Shabayev, V.E. Ostroumov

*Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences,
142290, Moskovskaya obl., Pushchino, ul. Institutskaya, 2
E-mail: VPSH@rambler.ru*

*Impact of growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* 20 on the yield of spring wheat was studied in pot experiment. Plants were grown up to maturity when agrogray soil was contaminated with Ni as $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ at a rate of 200 mg Ni/kg of soil against background of applying NPK fertilizers. After harvesting, content of nutrients N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn and Cu in grain, straw and roots was determined. N was determined by phenol technique. Resistance of plants to Ni toxicity was found under bacterial inoculation. Application of bacterium eliminated phytotoxicity of heavy metal and provided the same biomass production including grain as in control – in non-inoculated plants non-exposed Ni stress. Resistance of plants inoculated with bacterium to Ni toxicity was due to enhanced growth of root system and increase in content and accumulation of Ni in roots and, as a result this was not accompanied by increase in metal incorporation into aboveground organs. Resistance of plants inoculated with bacterium to Ni toxicity was due to enhanced growth of root system and increase in content and accumulation of Ni in roots. Application of bacterium also improved mineral nutrition of plants – increased nutrient uptake from contaminated soil. Increase in nutrient uptake by yield from contaminated soil as influenced by inoculation with bacterium was due to growth promotion and increase of plant weight in general without significant changes in content of most elements in aboveground organs and roots. Bacterium enhanced phytoextraction of heavy metal (soil cleaning) – increased Ni uptake by aboveground organs without significant changes in its content in grain and straw. Increase in Ni uptake by bacterially inoculated plants occurred without changes of soil medium reaction and was probably due to production of bacterial siderophores.*

Ключевые слова: *Pseudomonas*, яровая пшеница (*Triticum aestivum* L.), хлористый никель, химический состав растений

Key words: *Pseudomonas*, spring wheat (*Triticum aestivum* L.), nickel chloride, chemical composition of plants

Перспективным способом повышения урожая сельскохозяйственных культур считают использование стимулирующих рост растений ризосферных бактерий (*plant growth-promoting rhizobacteria* – PGPR), в том числе для фиторемедиации и повышения продуктивности загрязненных тяжелыми металлами (ТМ) почв [1, 2, 3]. PGPR наиболее эффективно улучшают ростовые показатели и увеличивают биомассу различных сельскохозяйственных культур [4, 5, 6]. В последние годы рассматривается возможность их использования в сельском хозяйстве 21-го столетия и дорожная карта коммерциализации технологии, основанной на PGPR [7].

Применение PGPR *Pseudomonas* существенно уменьшало фитотоксичность Ni [8, 9] и повышало устойчивость различных растений к токсическому действию этого ТМ [10, 11]. Внесение бактерии *P. fluorescens* 20 в ранее проведенном вегетационном опыте уменьшало фитотоксичность Ni, стимулировало рост и увеличивало массу вегетативных органов и корневой системы, усиливало фитоэкстракцию ТМ и улучшало минеральное питание растений яровой пшеницы в фазе выхода в трубку [9]. Кроме того, установлено, что использование PGPR *Pseudomonas* значительно увеличивало урожай зерна ячменя при загрязнении агросерой почвы соединениями

*работа выполнена в рамках госзадания «Физико-химические и биогеохимические процессы в антропогенно измененных почвах» (АААА-А18-118013190180-9 и ААА-А18-118013190181-6).

Табл. 1. Масса растений и содержание Ni в растениях в зависимости от загрязнения почвы никелем и внесения бактерии

Вариант	Масса растений (сухое вещество), г/сосуд				Содержание Ni в растениях, мг/кг		
	зерно	солома	корни	сумма	зерно	солома	корни
Без Ni и внесения бактерии – контроль	23,4	30,4	3,6	57,4	2	2	5
Ni без внесения бактерии	20,0	24,4	2,1	46,5	12	6	142
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	24,4	32,2	3,1	59,7	14	7	166
HCP ₀₅	3,3	4,9	1,1	9,8	2	1	

Pb и Cd и повышало устойчивость растений к токсическому действию ТМ [12, 13]. Стимуляция их роста при инокуляции PGPR рода *Pseudomonas* была обусловлена улучшением минерального питания растений [12, 13]. Исследований по влиянию PGPR рода *Pseudomonas* на урожай, в особенности массу зерна, и минеральное питание зерновых культур при их выращивании до полной спелости в условиях загрязнения почвы Ni проведено недостаточно.

Цель исследований – изучение влияния внесения PGPR *P. fluorescens* 20 на урожай яровой пшеницы и элементный состав растений, включая содержание и накопление в них Ni, при выращивании до созревания на агроерой почве, загрязненной ТМ.

Методика. Работу проводили при выращивании яровой пшеницы *T. aestivum* L. сорта Злата (Московский НИИСХ «Немчиновка») на агроерой почве юга Московской области в вегетационном опыте при искусственном загрязнении водорастворимым соединением Ni. В сосудах, содержащих 5 кг почвы, выращивали по 13 растений до полного созревания в течение 118 дней. В работе изучали бактерию *P. fluorescens* штамм 20, повышающую устойчивость яровой пшеницы к токсическому действию Ni в фазе выхода в трубку [9]. Схема опыта включала следующие варианты: без внесения никеля и бактерии (контроль), внесение никеля без бактерии, внесение никеля и бактерии. В опыте использовали почву пахотного горизонта (слой 0...20 см) среднесуглинистой агроерой почвы (Luvisol), на которой в предшествующем году выращивали ячмень. Она характеризовалась следующими агрохимическими показателями: рН_{KCl} – 5,62, С_{орг} – 1,3 %, N валовый – 142 мг, Ca и Mg (1 н. KCl) – 12,7 и 1,7 ммоль-экв, N-NH₄, N-NO₃ (0,1 н Na₂SO₄) – 0,5 и 0,6 мг, подвижные P₂O₅ и K₂O (0,2 н. HCl) – 20,2 и 12,9 мг/100 г почвы соответственно. В почву вносили NiCl₂·6H₂O (квалификации «хч» (Рехим, Россия) из расчета 200 мг Ni/кг почвы за 10 дней до посева семян на фоне внесения NPK-удобрений из расчета по 100 мг действующего вещества на 1 кг почвы в виде азотно-кислого аммония, двухзамещенного фосфорнокислого калия и сернокислого калия. После срезания растения высушивали при 70 °С до постоянной массы, взвешивали и определяли содержание Ni и биофильных элементов (N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn и Cu) в зерне, соломе и корнях. Условия выращивания растений, методики инокуляции семян бактерией, подготовки растений к химическому анализу, методы анализа растительного материала на содержание элементов и обработки полученных результатов описаны ранее [9]. Результаты исследований представлены в виде средних значений из четырех повторностей опыта ± ошибка средней.

Результаты и обсуждение. При загрязнении почвы Ni без внесения бактерии *P. fluorescens* 20 установлено его токсическое действие на яровую пшеницу, которое выразилось в уменьшении массы зерна на 14 %, соломы – на 20 %, по сравнению с контролем (табл. 1). Масса корней в условиях Ni-стресса уменьшалась в 1,7 раза. Внесение бактерии в загрязненных условиях

увеличивало массу зерна на 22 %, соломы – на 32 %. Одновременно масса корней увеличивалась в 1,6 раза. На фоне достоверного уменьшения урожая неинокулированных растений под влиянием Ni, по сравнению с контролем, использование бактерии в загрязненных условиях обеспечивало формирование такого же урожая, в том числе зерна, как и не инокулированных растений без загрязнения. Масса корней и соломы растений при внесении бактерии были практически такими же, как и в контрольном варианте. То есть, применение бактерии *P. fluorescens* 20 полностью устраняло токсическое действие Ni, внесенного из расчета 200 мг/кг почвы, на яровую пшеницу при выращивании до полного созревания. Результаты ранее проведенных исследований свидетельствуют, что использование этой бактерии значительно уменьшало токсическое действие Ni на растения яровой пшеницы и стимулировало их рост в фазе трубкования при загрязнении металлом в дозе 300 мг/кг почвы [9].

Табл. 2. Вынос Ni растениями в зависимости от загрязнения почвы никелем и внесения бактерии, мкг/сосуд

Вариант	Зерно	Солома	Корни	Сумма
Без Ni и внесения бактерии – контроль	47	61	18	126
Ni без внесения бактерии	240	146	298	684
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	342	225	515	1082
HCP ₀₅	63	45	100	185

В загрязненных условиях содержание Ni в растениях значительно увеличивалось во всех органах, в особенности в корнях. Использование бактерии не оказало существенного влияния на концентрацию этого минерального элемента в зерне и соломе. Содержание Ni в корневой системе инокулированных растений, напротив, увеличилось в 1,2 раза. При этом в корнях Ni было в десятки раз больше, чем в надземных органах. Применение бактерии увеличило вынос Ni зерном из загрязненной ТМ почвы в 1,4 раза, соломой – в 1,5 раза (табл. 2). Накопление Ni в корнях было значительно больше, чем в зерне и соломе, и увеличивалось при внесении бактерии в 1,7 раза.

В варианте с инокуляцией бактерией после срезания загрязненных Ni растений в фазе полного созревания не установлено существенных изменений реакции почвенной среды, по сравнению с контролем (табл. 3). Вне зависимости от загрязнения почвы Ni и внесения

Табл. 3. Реакция почвенной среды после выращивания растений в зависимости от загрязнения почвы никелем и внесения бактерии

Вариант	рН _{KCl} почвенной суспензии
Без Ni и внесения бактерии – контроль	6,20 ± 0,01
Ni без внесения бактерии	6,26 ± 0,04
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	6,25 ± 0,04
исходная почва	5,86 ± 0,00

Табл. 4. Содержание питательных элементов в растениях в зависимости от загрязнения почвы никелем и внесения бактерии

Вариант	N	P	K	Ca	Mg	Fe*	Mn	Zn	Cu	
	%					мкг/кг				
Зерно										
Без Ni и внесения бактерии – контроль	1,88	0,18	0,23	0,08	0,24	124	13	60	4	
Ni без внесения бактерии	2,06	0,20	0,30	0,07	0,24	159	18	74	5	
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	2,02	0,24	0,30	0,07	0,25	164	21	74	5	
Солома										
Без Ni и внесения бактерии – контроль	0,36	0,07	2,12	0,94	0,28	161	21	34	6	
Ni без внесения бактерии	0,40	0,07	2,20	0,83	0,32	206	27	37	7	
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	0,32	0,07	2,24	0,77	0,34	247	32	42	7	
Корни										
Без Ni и внесения бактерии – контроль	1,14	0,02	0,33	1,25	0,32	1,20	140	98	9	
Ni без внесения бактерии	1,33	0,04	0,43	0,58	0,40	1,33	170	107	9	
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	1,20	0,05	0,38	0,45	0,48	1,35	177	98	10	

*содержание Fe в корнях дано в %.

бактерии отмечено увеличение рН_{ксл} (на 0,40 ед.) только относительно исходной почвы.

При загрязнении почвы Ni без внесения бактерии установлено увеличение содержания в зерне практически всех исследованных биофильных элементов, по сравнению с контролем (табл. 4). Исключения касались только Ca и Mg, для которых величина этого показателя не изменялась. Повышение содержания большинства элементов в зерне загрязненных растений, вероятно, было связано с уменьшением урожая. Использование бактерии не оказывало влияния на величину этого показателя. Содержание большинства элементов в соломе и корнях под влиянием загрязнения Ni вне зависимости от инокуляции бактерией не изменилось, за исключением некоторого роста величины этого показателя для Mg, Fe и Mn и некоторого уменьшения – для Ca.

При загрязнении почвы Ni вынос большинства элементов зерном изменялся в виде тенденции, кроме его увеличения для K и Mn и уменьшения – для Mg (табл. 5). Под влиянием бактерии количество практически всех элементов в зерне возрастало, кроме снижения величины этого показателя для Ca. В суммарной биомассе загрязненных Ni растений накопление большинства элементов без инокуляции бактерией также изменялось в виде тенденции. Внесение бактерии на фоне загрязнения Ni увеличивало вынос исследованных элементов из почвы биомассой растений на 18...52 %. Наибольший в опыте рост (в 1,5 раза) был установлен для Fe и Mn. Это происходило в основном вследствие стимуляции их роста (см. табл. 1) в целом без существенных изменений содержания большинства элементов во всех органах.

Применение стимулирующей рост растений бактерии *P. fluorescens* 20 при загрязнении агросерой почвы водорастворимым соединением Ni в дозе 200 мг/кг почвы оказало положительное влияние на рост и урожай зерна яровой пшеницы. Этот прием полностью устранял негативное действие Ni, обеспечивая получение такого же урожая, включая зерно, как и у не инокулированных растений, не подвергнутых Ni стрессу. Таким образом, внесение бактерии повышало устойчивость растений яровой пшеницы к негативному действию ТМ. Аналогичную ситуацию отмечали ранее в результате проведения вегетационных опытов при загрязнении агросерой почвы соединениями Pb и Cd [12, 13].

Испытанные бактерии, оказывали неоднозначное влияние на биомассу яровой пшеницы, содержание и аккумуляцию Ni в растениях. Инокуляция бактериями рода *Pseudomonas* как защищала растения от токсического действия Ni [14, 15, 16], так и не оказывала влияния на поступление ТМ в растения [15, 16]. В наших исследованиях увеличение массы растений в загрязненных условиях при применении бактерии происходило также без существенных изменений содержания Ni в зерне и соломе. Внесение испытанных бактерий увеличивало вынос Ni зерном и соломой при полной спелости растений, как и вегетативной биомассой в фазе трубкования яровой пшеницы в ранее проведенном опыте [9] и, таким образом, усиливало фитоэкстракцию ТМ вследствие стимуляции роста растений. Ранее было установлено, что применение PGPR способствовало росту и увеличению биомассы растений, а также повышало эффективность фиторемедиации, увеличивая биодоступность и растворимость ТМ [17]. В корневой системе при полной

Табл. 5. Накопление питательных элементов в растениях в зависимости от загрязнения почвы никелем и внесения бактерии

Вариант	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	
	мг/сосуд					мкг/сосуд				
Зерно										
Без Ni и внесения бактерии – контроль	400	42	54	19	56	2902	304	1404	94	
Ni без внесения бактерии	412	40	64	19	48	3180	360	1480	100	
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	492	59	73	12	61	4002	512	1806	122	
HCP ₀₅	70	25	11	2	10	827	108	175	19	
Целое растение										
Без Ni и внесения бактерии – контроль	590	64	711	350	153	7849	1446	2791	308	
Ni без внесения бактерии	538	58	606	229	134	8234	1376	2608	290	
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	632	83	806	274	186	12007	2091	3462	378	
HCP ₀₅	81	12	109	22	28	2470	482	523	35	

спелости растений было значительно больше Ni, чем в надземных органах, как и в фазе трубкования в вегетативной массе в нашем предыдущем опыте [9]. Под влиянием бактерий увеличивались как содержание, так и накопление Ni в корневой системе. Корни выступают первым барьером при транспорте в растения TM из почвы, в корнях происходит их аккумуляция и детоксикация [18]. Увеличение содержания в корнях при инокуляции бактерией, наряду с увеличением накопления в них Ni, свидетельствует об усилении барьера на границе надземные органы – корни. Вероятно, это повысило устойчивость растений к токсическому действию Ni и способствовало устранению его негативного действия.

Увеличение аккумуляции Ni в растениях под влиянием бактерии происходило без изменения реакции почвенной среды, которая, как известно, оказывает существенное воздействие на подвижность в почве и биодоступность TM. Увеличение выноса Ni надземной биомассой и его накопления в корневой системе инокулированных бактерией рода *Pseudomonas* растений, вероятно, было обусловлено увеличением подвижности в почве TM под влиянием продуцируемых бактериями экзометаболических – сидерофоров [3]. Они способны воздействовать на подвижность в почве и биодоступность металлов в результате процессов подкисления, комплексообразования, осаждения и восстановления. В зависимости от состава и концентрации сидерофоров, продуцируемых ризосферными микроорганизмами, а также свойств металла, возможно, как увеличение, так и уменьшение его подвижности [19]. Так, установлено, что тиокарбонная кислота – сидерофор, продуцируемый некоторыми видами *Pseudomonas*, образует растворимые комплексы с Ni, Fe, Mn, Zn и Cu, но осаждает из раствора такие токсичные металлы, как Cd и Pb и металлоиды As и др. [20].

Большая масса подвергнутых никелевому стрессу растений при уборке и их устойчивость к токсическому действию TM при внесении ризобактерии, могли быть обусловлены также увеличением выноса суммарной биомассой из загрязненной почвы биофильных элементов и, следовательно, улучшением минерального питания растений. Микробы, ассоциированные с растениями, могут стимулировать их рост, оказывая положительное влияние на минеральное питание растений [4], в том числе в условиях стресса, вызванного TM [2]. Увеличение выноса элементов минерального питания инокулированными бактерией растениями яровой пшеницы происходило в целом без существенных изменений содержания большинства элементов в надземных органах и корнях. Следовательно, внесение бактерии, увеличивало накопление питательных элементов в растениях при загрязнении почвы Ni вследствие стимуляции их роста и увеличения урожая.

Выводы. Внесение ризосферной бактерии *P. fluorescens* 20 способствовало росту яровой пшеницы и повышало устойчивость растений к токсическому действию Ni при искусственном загрязнении TM агросерой почвы в дозе 200 мг/кг почвы. Этот прием увеличивал массу зерна, соломы и корней в условиях Ni стресса и полностью устранял фитотоксичность TM. Инокуляция бактерией усиливала фитоксигенность Ni, повышая его вынос из загрязненной почвы надземными органами растений, без значимых изменений содержания TM в зерне и соломе. Одновременно содержание и накопление Ni в корневой системе возрастало.

Положительное влияние и устойчивость растений к токсическому действию Ni при инокуляции бактерией обусловлено, во-первых, усилением роста корневой системы, во-вторых, улучшением минерального питания

инокулированных растений. О чем свидетельствует увеличение выноса из загрязненной почвы большинства биофильных элементов, которое происходило вследствие стимуляции роста и увеличения массы растений в целом, без существенных изменений содержания практически всех исследованных элементов в надземных органах и корнях, а также реакции почвенной среды.

Благодарности. Авторы благодарят ЦКП ИФХиБПП РАН за выполнение химических анализов почвы и растений, полученных после озонирования тканей растений.

Литература

1. *Phytoremediation of heavy metals contaminated soil using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A current perspective* / A. Handsa, V. Kumar, A. Anshumali, et al. // *Recent Research in Science Technology*. 2014. Vol. 6. No. 1. P. 131–134.
2. *Beneficial microbes for sustainable agriculture* / A. K. Chandel, H. Chen, H. Ch. Sharma, et al. /eds. Chandra R., Sobti R. C. // *Microbes for sustainable development and bioremediation. Chapter 15*. P. 257–266. Boca Raton: CRC Press, 2020. 386 p. doi: 10.1201/9780429275876-15.
3. Dorjey S., Dolkar D., Sharma R. *Plant growth promoting rhizobacteria Pseudomonas: A review* // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2017. Vol. 6. No. 7. P. 1335–1344. doi:10.20546/ijcmas.2017.602.160.
4. Pattnaik S., Mohapatra B., Gupta A. *Plant growth-promoting microbe mediated uptake of essential nutrients (Fe, P, K) for crop stress management: microbe–soil–plant continuum. Review article* // *Frontiers in Agronomy*. 09 August 2021. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fagro.2021.689972/full> (дата обращения 12.10.2022). doi: 10.3389/fagro.2021.689972.
5. *Developing novel bacterial based bioformulation having PGPR properties for enhanced production of agricultural crops* / M. Kalita, M. Bharadwaz, T. Dey, et al. // *Indian Journal of Experimental Biology*. 2015. Vol. 53. No. 1. P. 56–60.
6. *Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture* / G. Gupta, S. S. Parihar, N. K. Ahirwar, et al. // *Journal of Microbial and Biochemical Technology*. 2015. Vol. 7, No. 2. P. 96–102. doi: 10.4172/1948-5948.1000188.
7. *Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. Review article* / R. Backer, J. S. Rokern, G. Ilangumaran, et al. // *Frontiers in Plant Science*. 2018. Vol. 23. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.01473/full> (дата обращения 15.09.2022). doi: 10.3389/fpls.2018.01473
8. *Ризосферные бактерии рода Pseudomonas в современных агробиотехнологиях* / Т. О. Анохина, Т. В. Сиунова, О. И. Сизова и др. // *Агрохимия*. 2018. № 10. С. 54–66. doi: 10.1134/S0002188118100034.
9. Шабает В. П., Остроумов В. Е. *Рост и минеральное питание яровой пшеницы при внесении ростостимулирующей ризосферной бактерии в условиях загрязнения почвы никелем* // *Российская сельскохозяйственная наука*. 2021. № 5. С. 46–50. doi: 10.31857/S2500262721050094.
10. *Tolerance of transgenic canola plants (Brassica napus) amended with plant growth-promoting bacteria to flooding stress at a metal-contaminated field site* /

- A. J. Farwell, S. Vesely, V. Nero, et al. // *Environmental Pollution*. 2007. Vol. 147. No. 3. P. 540–545. doi: 10.1016/j.envpol.2006.10.014.
11. Nickel toxicity in plants: reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities – a review / M.U.Hassan, M.U.Chattha, I.Khan, et al. // *Environmental Science and Pollution Research*. 2019. Vol. 26. No. 13. P. 12673–12688. doi: 10.1007/s11356-019-04892-x.
 12. Шабает В. П. Почвенно-агротимические аспекты ремедиации загрязненной свинцом почвы при внесении стимулирующих рост растений ризосферных бактерий // *Почвоведение*. 2012. № 5. С. 601–611.
 13. Шабает В. П., Бочарникова Е. А., Остроумов В. Е. Ремедиация загрязненной кадмием почвы при применении стимулирующих рост растений ризобактерий и природного цеолита // *Почвоведение*. 2020. № 6. С. 738–750. doi: 10.31857/S0032180X20060118.
 14. Tank N., Saraf M. Enhancement of plant growth and decontamination of nickel-spiked soil using PGPR // *Journal of Basic Microbiology*. 2009. Vol. 49. No. 2. P. 195–204. doi: 10.1002/jobm.200800090.
 15. Inoculation of endophytic bacteria on host and non-host plants-effects on plant growth and Ni uptake / Y. Ma, M. Rajkumar, Y. Luo, et al. // *Journal of Hazardous Materials*. 2011. Vol. 195. P. 230–237. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.08.034.
 16. Rajkumar M., Freitas H. Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard // *Bioresource Technology*. 2008. Vol. 99. No. 9. P. 3491–3498. doi: 10.1016/j.biortech.2007.07.046.
 17. Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: A review / A. Ullah, S. Heng, M. F. H. Munis, et al. // *Environmental and Experimental Botany*. 2015. Vol. 117. P. 28–40. doi: 10.1016/j.envexpbot.2015.05.001.
 18. Титов А. Ф., Казнина Н. М., Таланова В. В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. 2014. 194 с.
 19. Mishra J., Singh R., Arora N. K. Alleviation of heavy metal stress in plants and remediation of soil by rhizosphere microorganisms. // *Frontiers in Microbiology*. 2017. September URL: <http://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01706/full>. (дата обращения: 15.11.2022).
 20. Zawadzka A. M., Paszczyński A. J., Crawford R.L. Transformations of toxic metals and metalloids by *Pseudomonas stutzeri* strain KC and its siderophore pyridine-2,6-bis (thiocarboxylic acid) // *Advances in Applied Bioremediation (Soil Biology 17)* / eds. A. Singh, R.C. Kuhad, O.P. Ward. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. P. 221–238. doi: 10.1007/978-3-540-89621-0_12.

Поступила в редакцию 03.03.2022

После доработки 18.07.2022

Принята к публикации 05.12.2022

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АССОЦИАТИВНЫХ РИЗОБАКТЕРИЙ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ФИТОСАНИТАРНОГО СОСТОЯНИЯ ПОСЕВОВ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР*

Л.Е. Колесников¹, кандидат биологических наук, А.А. Белимов², доктор биологических наук, Б.А. Хасан³, Ю.Р. Колесникова⁴, кандидат сельскохозяйственных наук, М.В. Киселев¹, кандидат сельскохозяйственных наук, Д.С. Минаков¹, аспирант

¹Санкт-Петербургский государственный аграрный университет,
196601, Санкт-Петербург – Пушкин, Петербургское ш., 2
E-mail: kleon9@yandex.ru

²Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,
196608, Санкт-Петербург, ш. Подбельского, 3
E-mail: belimov@rambler.ru

³Ministry of Agriculture, Agricultural Research Office,
Abo-Ghraib, St. Al-Zaytun, H. 10081, Baghdad
E-mail: bashar_alamiry@yahoo.com

⁴Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР),
190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44
E-mail: jusab@yandex.ru

*Исследования проводили с целью определения влияния ассоциативных ризобактерий на развитие возбудителей болезней мягкой пшеницы и тритикале. Изучали варианты замачивания семян и двукратного опрыскивания растений жидко-маточной композицией *Bacillus subtilis* 124-11, *Sphingomonas* sp. K1B и *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 (титр $10^8...10^9$ кл/мл) и органоминеральной композицией *Batr Gum*. В контрольном варианте растения обрабатывали водой и *Batr Gum*. Наибольшей в опыте эффективностью в отношении желтой и бурой ржавчины пшеницы обладал штамм *Bacillus subtilis* 124-11, тритикале – *Sphingomonas* sp. K1B. Применение *Bacillus subtilis* 124-11 на сорте Ленинградская 6 снижало интенсивность развития желтой ржавчины на 12 %, числа пустул – на 47 %, длины полосы с пустулами – на 41 %, площади пустулы – на 39 %; развития бурой ржавчины – на 9 %, числа пустул – на 50 %, площади пустулы – на 40 %. Обработка сорта *Dua* штаммом *Sphingomonas* sp. K1B уменьшала пораженность растений бурой ржавчиной на 13 %, числа пустул – на 59 %, площади пустулы – на 52 %. Снижение интенсивности развития мучнистой росы на пшенице и числа пятен с налетом зарегистрировано при использовании штамма *Sphingomonas* sp. K1B на сорте Ленинградская 6 – на 12 %, *Ajeeba* – 19 %, *Trizo* – 13 %, *Сударыня* – 3 %. При использовании ассоциативных ризобактерий на сорте пшеницы *Сударыня*, а также тритикале *Аист Харьковский* и *Dua* выявлено уменьшение гелиминтоспориозной корневой гнили, которое было наибольшим (на 32 %) от штамма *Sphingomonas* sp. K1B. Совместное применение бактериальных штаммов с органоминеральным удобрением *Batr Gum* снижало развитие мучнистой росы и желтой ржавчины эффективнее, чем их раздельное использование.*

THE OPTIMIZATION OF GRAIN CROPS' PHYTOSANITARY CONDITION WITH THE ASSOCIATIVE RHIZOBACTERIA APPLICATION

L.E. Kolesnikov^{1*}, A.A. Belimov², B.A. Hassan³, Yu.R. Kolesnikova⁴, M.V. Kiselev¹, D.S. Minakov¹

¹Saint-Petersburg State Agrarian University,
196601, Sankt-Peterburg-Pushkin, Peterburgskoe sh., 2
E-mail: kleon9@yandex.ru

²All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology,
196608, Sankt-Peterburg-Pushkin, sh. Podbelskogo, 3
E-mail: belimov@rambler.ru

³Ministry of Agriculture, Agricultural Research Office,
Abo-Ghraib, St. Al-Zaytun, H. 10081, Baghdad
E-mail: bashar_alamiry@yahoo.com

⁴Federal Research Center the Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),
190000, Sankt-Peterburg, ul. Bol'shaya Morskaya, 42-44
E-mail: jusab@yandex.ru

*The effectiveness of the associative rhizobacteria influence on the intensity of the soft wheat and triticale diseases' development was studied. According to the experimental scheme, seeds were soaked and plants were sprayed twice with a working fluid, containing rhizobacteria strains of *Bacillus subtilis* 124-11, *Sphingomonas* sp. K1B and *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 (titer 10⁸-10⁹ cfu/ml), and other variants with combined treatment with a liquid organomineral composition *Batr Gum* were used. In the control plants were treated with water and *Batr Gum* (by 10 ml/l of water). The biopreparations influence on the diseases development was investigated using generally accepted accounting scales and additional phytopathological indicators. The *Bacillus subtilis* strain 124-11, had the*

*работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2021-1055 от «28» сентября 2021 г. о предоставлении гранта в форме субсидии из федерального бюджета на реализацию проекта: «Мобилизация генетических ресурсов микроорганизмов на базе Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ) при ФГБНУ ВНИИСХМ с использованием сетевого принципа организации» и в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР № 0481-2022-0001 «Структурирование и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

maximal effectiveness against yellow and brown rust of wheat, and Sphingomonas sp. K1B – against triticale rusts. In particular, the treatment of the local cultivar Leningradskaya 6 with Bacillus subtilis 124-11 led to a decrease in the development of yellow rust by 12 %, the pustules number by 47 %, the strip length by 41 %, the pustule area by 39 %; the brown rust development by 9 %, the pustules number by 50 %, the pustule area by 40 %. After the Dua, k-828 cultivar treatment with the Sphingomonas sp. K1B strain, a decrease in the plants affection by brown rust was observed by 13 %, the pustules number decreased by 59 %, the pustule area by 52 %. A significant decrease in the powdery mildew development on soft wheat and a decrease in the number of spots with plaque were recorded when using the Sphingomonas sp. K1B strain on cultivars: Leningradskaya 6 – by 12 % (79.4 %), Ajeeba – 19 % (72.5 %), Trizo – 13 % (87.2 %), Sudarynya – 3 % (60 %). On the soft wheat cultivar Sudarynya and triticale cultivars Aist Kharkovskiy and Dua, a decrease in helminthosporiotic root rot was revealed when using associative rhizobacteria; the maximal decrease in the disease development (by 32 %) was noted when using the strain Sphingomonas sp. K1B. When bacterial strains were used combined with the organomineral fertilizer Batr Gum, the development of powdery mildew and yellow rust was much slower than when they were used separately, while the greatest effectiveness against these diseases (by 31 % and 91 %) was revealed in the «Batr Gum + Pseudomonas fluorescens SPB2137» experimental variant.

Ключевые слова: пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L.), тритикале (*Triticosecale* Wittm. ex A. Camus), стимулирующие рост ассоциативные ризобактерии (PGPR), болезни зерновых культур, фотосинтетические пигменты, продуктивность пшеницы.

Key words: soft wheat (*Triticum aestivum* L.), triticale (*Triticosecale* Wittm. ex A. Camus), growth-stimulating associative rhizobacteria (PGPR), diseases of grain crops, photosynthetic pigments, wheat productivity

В последние годы под влиянием антропогенного воздействия происходят необратимые изменения в структурно-функциональной организации агроэкосистем, наблюдается снижение биоразнообразия микроорганизмов и обеднение генофонда растений. Перестройка почвенной биоты приводит к уменьшению ее микробиологической активности и ухудшению плодородия почвы [1]. Фитосанитарная дестабилизация агроэкосистем, наблюдаемая в ряде регионов РФ, обуславливает необходимость разработки новых ресурсосберегающих агротехнологий возделывания сельскохозяйственных культур, направленных не только на повышение их продуктивности и улучшение качества урожая, но и на снижение развития и распространённости возбудителей болезней [2].

Одним из факторов, оказывающих существенное влияние на улучшение фитосанитарного состояния посевов зерновых культур, выступает использование полифункциональных биопрепаратов, составными элементами которых служат биологически активные вещества ростостимулирующего и защитного действия, а также живые культуры микроорганизмов [3, 4]. Ризосферные микроорганизмы способны формировать с корневой системой различного типа ассоциации и образовывать специфические бактериальные сообщества, способствующие улучшению адаптации растений к внешним воздействиям, а также повышающие их устойчивость к вредным организмам [5, 6].

Ризобактерии оказывают плеiotропное действие на растения, однако характер их влияния может варьировать в зависимости от абиотических и биотических факторов, а также от генотипа растения и биоценоза почвы [7, 8]. Основные механизмы положительного влияния ризобактерий на жизнедеятельность растений обусловлены прямой или непосредственной стимуляцией их роста посредством синтеза регуляторов роста, а также подавлением развития почвенных фитопатогенных микроорганизмов – микроскопических грибов и бактерий [9]. Ризобактерии могут повышать потенциал адаптации растений к абиотическим стрессам даже в случае произрастания на загрязнённых тяжёлыми металлами почвах, что позволяет использовать их в технологиях фиторемедиации почв [10].

Устойчивые и восприимчивые к болезням зерновые культуры различаются по видовому составу микроорганизмов, населяющих ризосферу [11]. Некоторые бактерии, широко используемые в биологической защите растений (*Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Serratia* spp. и *Paenibacillus* spp.) могут индуцировать ферменты, связанные с проявлением устойчивости растений к болезням, включая хитиназу, фенилаланин-аммиачную лиазу,

пероксидазу, липоксигеназу и супероксиддисмутазу [12]. Кроме того, бактерии могут ингибировать развитие болезней, снижая содержание железа, необходимого для роста фитопатогенов [13].

В связи с изложенным, достаточно востребованы исследования по использованию ризобактерий в практике растениеводства и защиты растений, результаты которых закладывают основы для создания микробиологических препаратов, снижающих и оптимизирующих применение химических средств защиты растений и минеральных удобрений [5].

Цель исследований – определение эффективности штаммов ассоциативных ризобактерий в отношении интенсивности развития особоопасных болезней мягкой пшеницы и тритикале.

Методика. Работу выполняли в 2018, 2021 и 2022 гг. на полях научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» ФГБНУ «ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» (ВИР). Лабораторные исследования выполнены в ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» (ВНИИСХМ) и на кафедре защиты и карантин растений, в испытательной лаборатории экологического контроля объектов окружающей среды, в биохимической лаборатории ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО СПбГАУ).

Микрополевой опыт закладывали в четырехкратной повторности методом организованных повторений. Площадь учетной делянки для одного варианта составляла 1,0 м², варианты по делянкам в повторениях располагали систематически. Посев проводили рядовым способом с междурядьями 15 см и расстоянием в ряду 1...2 см при глубине заделки семян 5...6 см (300 зерен на 1 м²). Сразу после посева делянки укрывали Лутрасилом согласно общепринятым рекомендациям и методикам ВИР по проведению микрополевых экспериментов.

Использовали сорта яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) Ленинградская 6 (к-64900), Сударыня (к-66407), Тризо (к-64981), Аjeeба (к-55721) и яровой тритикале (*Triticosecale* Wittm. ex A. Camus) Dua (к-828) и Аист Харьковский (к-2778). Объектом изучения были штаммы ассоциативных ризобактерий *Bacillus subtilis* 124-11, *Sphingomonas* sp. K1B и *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 из Водоственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения при ФГБНУ ВНИИСХМ.

Схема опыта предусматривала замачивание семян и двукратное опрыскивание растений в фазы выхода

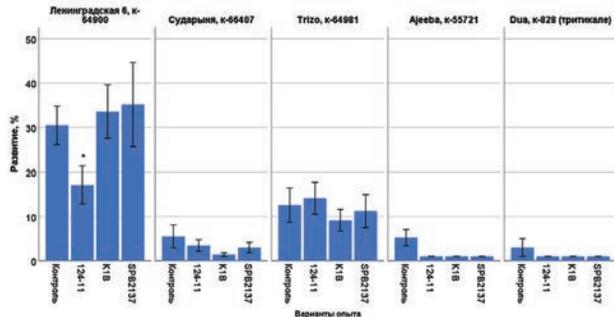


Рис. 1. Интенсивность развития желтой ржавчины на сортах мягкой пшеницы и тритикале (2022 г.) при применении штаммов ассоциативных ризобактерий (здесь и на рисунках со 2 по 10 указаны варианты опыта: контроль – вода, 124-11 – *B. subtilis* 124-11, K1B – *Sphingomonas* sp. K1B, SPB2137 – *Ps. fluorescens* SPB2137; вертикальные линии – стандартные ошибки для средних; * – достоверное изменение величины показателя, по сравнению с контролем, по t-критерию Стьюдента при $p < 0,05$).

в трубку и начала цветения. Норма расхода рабочей жидкости (10^8 кл/мл и 10^9 кл/мл соответственно) при замачивании семян – 2 мл суспензии на 10 г семян, при опрыскивании растений – 100 мл/м².

Кроме того, схема опыта включала варианты с использованием органоминерального удобрения Batr Gum. Доза применения 10 мл/л воды. При формировании полифункциональных комплексов к рабочему раствору Batr Gum добавляли чистые бактериальные культуры в пропорции 1:1, в частности, к 100 мл рабочего раствора Batr Gum – 100 мл культуральной жидкости согласно вариантам опыта: *B. Subtilis* 124-11 + Batr Gum, *Sphingomonas* sp. K1B + Batr Gum, *Ps. fluorescens* SPB2137+ Batr Gum. Расход рабочего раствора Batr Gum и полифункциональных комплексов: при замачивании семян – 2 мл на 10 г семян, при опрыскивании растений – 100 мл/м². Опрыскивание растений осуществляли в вечерние часы в фазы выхода в трубку и начала цветения.

Удобрение Batr Gum – жидкая органоминеральная композиция на основе гуминовых кислот, в состав которой входят микроэлементы и полигидроксикарбоновые кислоты (янтарная, лимонная, молочная, аскорбиновая).

Пораженность растений пшеницы и тритикале болезнями (бурая и желтая ржавчина, мучнистая роса, септориозно-пиренофорозная пятнистость) определяли, как по комплексу общепринятых параметров развития болезни, так и по дополнительным фитопатологическим показателям. Морфобиологические признаки и структуру урожайности растений изучали в фазы развития зародышевого побега (стадия 3-листьев), колошения-цветения и созревания по комплексу показателей, описанному ранее [14].

Содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов во флаговых листьях пшеницы определяли спектрофотометрическим методом [15] с использованием спектрофотометра SPEKOL-11 (Carl Zeiss Jena).

Алгоритм компьютерной обработки результатов исследования включал создание в системе MS Excel базы данных фитопатологических и фитометрических показателей зерновых культур согласно вариантам опыта, конвертирование их значений в кодировочную таблицу IBM SPSS с последующей статистической обработкой. С использованием методов описательной статистики по

вариантам опыта были определены средние значения фитопатологических и фитометрических показателей посевов, стандартные ошибки и 95 %-ные доверительные интервалы для средних. Кроме того, в работе использовали методы непараметрического корреляционного анализа на основе расчета коэффициентов ранговой корреляции Спирмена и факторного анализа.

Метеорологические условия вегетационных периодов 2018, 2021 и 2022 гг. сильно различались. Суммы температур в мае с даты посева зерновых культур (10 мая) в 2018 г. ($\Sigma T = 295,8$ °C) и 2021 г. ($\Sigma T = 289,1$ °C) были значительно выше, чем в 2021 г. ($\Sigma T = 120,4$ °C). В мае 2021 г. отмечена существенно большая сумма осадков ($O = 67,7$ мм), чем в 2018 г. ($O = 2,4$ мм) и 2021 г. ($O = 4,3$ мм).

Средняя температура в июне 2021 г. была выше нормы на 3,4 °C, а в июне 2018 и 2022 гг. – ниже соответственно на 1,2 и 0,3 °C. Согласно величинам гидро-термического коэффициента увлажнения Селянинова (ГТК) июль 2021 г. (ГТК=2,0) отличался большей влагообеспеченностью, по сравнению с 2018 г. (ГТК=1,0) и 2022 г. (ГТК=1,2). В августе 2021 и 2022 гг. метеоусловия не различались (ГТК=2,6 и 2,5), тогда как в 2018 г. величина ГТК была значительно ниже.

Результаты и обсуждение. В 2022 г. развитие возбудителя бурой ржавчины *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* на пшенице и тритикале было незначительным, сильное развитие возбудителя желтой ржавчины *Puccinia striiformis* West. f. sp. *tritici* Erikss. et Henn., превышающее экономический порог вредоносности, отмечено только на сорте Ленинградская 6 ($R_{ж} = 29,5 \pm 4,0$ %). На остальных сортах мягкой пшеницы и тритикале оно было незначительным (рис. 1). В варианте с обработкой сорта Ленинградская 6 штаммом *B. subtilis* 124-11, снижение интенсивности развития болезни составило 12 %. При этом число пустул возбудителя существенно уменьшилось на 47 % (с 844 шт./лист до 444 шт./лист). Несущественное снижение развития болезни при использовании *B. subtilis* 124-11 было выявлено на сортах мягкой пшеницы Сударыня (на 2 %), Ажеба (на 4 %) и сорте тритикале Два (на 2 %).

Во всех вариантах опыта с обработкой сорта Ленинградская 6 штаммами ассоциативных ризобактерий в 2022 г. отмечено существенное снижение длины полосы с пустулами желтой ржавчины, по сравнению с контролем: *B. subtilis* 124-11 – на 41 %, *Ps. fluorescens* SPB2137 – на 31 %, *Sphingomonas* sp. K1B – на 8 %. Статистически достоверное уменьшение величины этого показателя на 19 % было также зарегистрировано на сорте Ажеба в варианте с *Sphingomonas* sp. K1B.

Обработка растений сорта Ленинградская 6 штаммом *B. subtilis* 124-11 привела к снижению площади пустулы, по сравнению с контролем, на 39 % (с 0,038 мм² до 0,024

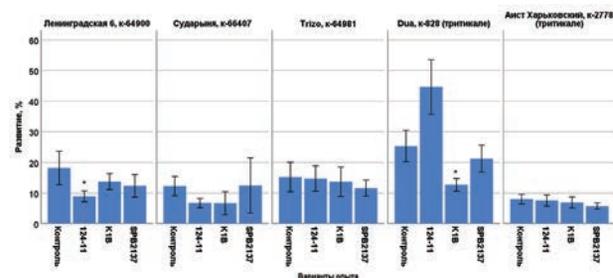


Рис. 2. Развитие бурой ржавчины на сортах мягкой пшеницы и тритикале при применении штаммов ассоциативных ризобактерий (2021 г.).

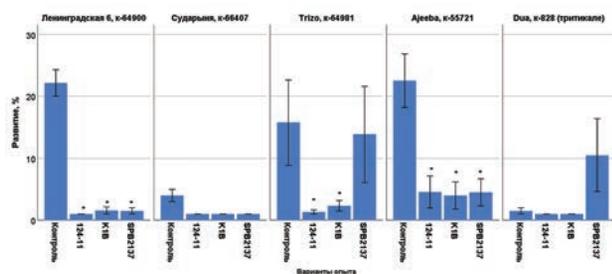


Рис. 3. Интенсивность развития мучнистой росы на сортах мягкой пшеницы и тритикале при применении штаммов ассоциативных ризобактерий (2022 г.).

мм²), штаммом *Sphingomonas* sp. K1B на сорте Сударыня – на 48 % (с 0,029 мм² до 0,015 мм²).

В 2021 г. наблюдали обратную картину, при отсутствии симптомов желтой ржавчины на сортах мягкой пшеницы и тритикале отмечали сильное развитие бурой ржавчины. Его статистически достоверное снижение на 9 % наблюдали на сорте мягкой пшеницы Ленинградская 6 при использовании штамма *B. subtilis* 124-11, а также на сорте тритикале Dua в варианте с *Sphingomonas* sp. K1B – на 5 % (рис. 2).

При использовании *B. subtilis* 124-11 и *Sphingomonas* sp. K1B на указанных сортах мягкой пшеницы и тритикале число пустул микромицета уменьшилось на 50 и 58 %, а площадь пустул – на 40 и 52 % соответственно. Кроме того, зарегистрировано статистически достоверное снижение числа пустул бурой ржавчины при применении *B. subtilis* 124-11 на сорте Сударыня на 79 %.

В 2022 г. на сортах мягкой пшеницы Ленинградская 6, Trizo и Аjeeба отмечено сильное развитие возбудителя мучнистой росы *Blumeria graminis* (DC.) Speer f. sp. *tritici* на уровне и больше экономического порога вредоносности (рис. 3). Статистически достоверное снижение развития болезни было зарегистрировано при использовании всех штаммов ассоциативных ризобактерий на сортах Ленинградская 6 и Аjeeба: *B. subtilis* 124-11 – на 12,8 % и 18 %; *Sphingomonas* sp. K1B – на 12 % и 19 %; *Ps. fluorescens* SPB2137 – на 12 % и 18 %. На сорте Trizo развитие мучнистой росы было существенно меньше, чем в контроле, в вариантах с обработкой штаммами *B. subtilis* 124-11 и *Sphingomonas* sp. K1B – на 14 % и 13 % соответственно.

При использовании более объективного показателя – числа пятен с налетом мучнистой росы, на сорте Ленинградская 6 снижение поражаемости пшеницы микромицетом при обработке ассоциативными ризобактериями *Bacillus subtilis* 124-11 составило 76,0 %, *Sphingomonas*

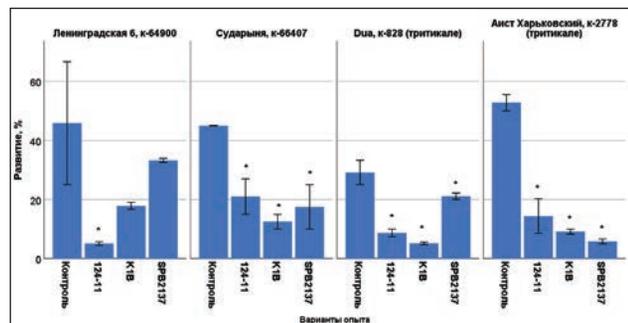


Рис. 4. Развитие корневой гнили мягкой пшеницы и тритикале при применении штаммов ассоциативных ризобактерий (2021 г.).

sp. K1B – 79,4 %, *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 – 84,8 %; на сорте Сударыня – соответственно 53,3; 60,0 и 66,7 %; на сорте Trizo при использовании *Bacillus subtilis* 124-11 – 89,1 %, *Sphingomonas* sp. K1B – 87,2 %; Аjeeба в варианте с *Sphingomonas* sp. K1B – на 72,5 %

При применении штамма *B. subtilis* 124-11 на сортах Ленинградская 6 и Аjeeба отмечено уменьшение площади пятен с налетом мучнистой росы на 49 и 87 % соответственно. Кроме того, на сорте Аjeeба существенное снижение величины этого показателя патогенеза зарегистрировано при применении *Sphingomonas* sp. K1B (на 72 %) и *Ps. fluorescens* SPB2137 (на 82 %).

В 2022 г. поражаемость пшеницы и тритикале корневой гнилью, вызываемой микроскопическим грибом *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.), была незначительной. В 2021 г. статистически достоверное снижение болезни во всех вариантах опыта с применением ассоциативных ризобактерий выявлено на сорте мягкой пшеницы Сударыня, а также сортах тритикале Аист Харьковский и

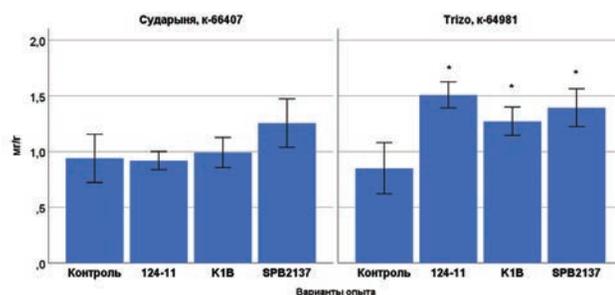


Рис. 5. Содержание хлорофилла а во флаговых листьях пшеницы (2018 г.).

Dua (рис. 4). Симптомов поражения корневой гнилью на сорте Trizo не наблюдали. Кроме того, выявлено существенное (на 39 %) снижение развития болезни на сорте Ленинградская 6 при обработке посевов штаммом *B. subtilis* 124-11.

В 2018 г. штаммы бактерий не оказывали достоверного влияния на содержание хлорофилла а в листьях пшеницы сорта Сударыня, выявлена только тенденция повышения величины этого показателя, особенно в варианте с использованием *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 на 34 %. Содержание хлорофилла а во всех вариантах опыта на сорте Trizo существенно выросло (рис. 5).

В среднем по двум сортам наибольшее увеличение хлорофилла а на 49 % (t=2,5) зарегистрировано при применении штамма *Ps. fluorescens* SPB2137 (t=2,6), что

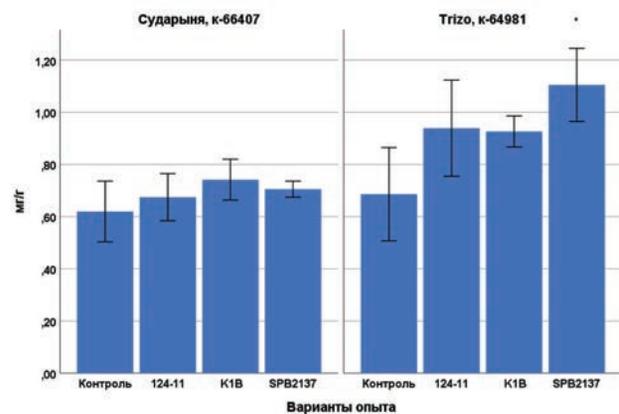


Рис. 6. Содержание хлорофилла b во флаговых листьях пшеницы (2018 г.).

Факторный анализ фитометрических показателей пшеницы (2018 г)

Показатель	Факторные нагрузки	
	F ₁	F ₂
Фаза онтогенеза согласно шкале Эукарпия (Цадокса), балл	0,47	0,18
Высота растения, см	0,45	-0,21
Число корней, шт.	-0,85	0,04
Длина корней, мм	-0,70	0,45
Число узловых корней, шт.	-0,24	0,49
Длина узловых корней, мм	-0,70	-0,41
Продуктивная кустистость, шт.	-0,53	-0,12
Общая кустистость, шт.	-0,74	0,46
Длина колоса, мм	-0,12	0,20
Число колосков в колосе, шт.	0,05	-0,15
Площадь флагового листа, см ²	0,31	-0,38
Площадь предфлагового листа, см ²	0,06	-0,49
Масса корней, г	-0,85	-0,08
Масса колоса, г	0,13	-0,57
Масса вегетативной части, г	-0,51	-0,57
Число колосков в колосе, шт.	0,07	-0,09
Число зерен в колосе, шт.	0,09	0,91
Масса зерен одного колоса, г	-0,31	0,41
Масса 1000 зерен, г	-0,41	-0,72
Потенциальная урожайность, г/растение	-0,53	0,24
Развитие корневой гнили, %	0,75	0,50
Развитие бурой ржавчины, %	0,06	0,98
Число пустул бурой ржавчины, шт.	0,04	0,98
Площадь пустулы бурой ржавчины, мм ²	0,16	0,87
Развитие септориозно-пиренофорозной пятнистости, %	0,35	-0,17
Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	-0,54	0,20
Хлорофилл <i>b</i> , мг/г	-0,63	0,41
Хлорофилл <i>a</i> и <i>b</i> , мг/г	-0,61	0,29
Каротиноиды, мг/г	-0,73	0,32
Хлорофиллы <i>a</i> / <i>b</i> , ед.	0,08	-0,23
Хлорофиллы <i>a</i> и <i>b</i> / каротиноиды, ед.	0,49	0,02

обуславливало существенный рост при $p < 0,05$ числа (на 21 %) и длины узловых корней (на 14 %), длины колоса (на 10 %), числа колосков в колосе (на 8 %) и массы 1000 зерен (на 7 %).

Содержание хлорофилла *b* у разных сортов пшеницы и в различных вариантах опыта существенно не изменялось, за исключением варианта со штаммом *Ps. fluorescens* SPB2137 на сорте Trizo, в котором оно существенно выросло, по сравнению с контролем, на 61 %. Тенденция роста содержания хлорофилла *b*, по сравнению с контролем, отмечена у растений сорта Trizo при обработках *B. subtilis* 124-11 – на 37 %, *Sphingomonas* sp. K1B – на 35 % (рис. 6).

Существенно большим суммарным содержанием хлорофилла *a* и *b* во флаговых листьях пшеницы при использовании штаммов *B. subtilis* 124-11 и *Ps. fluorescens* SPB2137, по сравнению с контролем, отличался сорт Trizo. В среднем по сортам Сударыня и Trizo достоверный рост фотосинтетических пигментов на 44 % ($t=2,4$) зарегистрирован в варианте с использованием *Ps. fluorescens* SPB2137.

Наибольшее в опыте увеличение соотношения хлорофиллов (*a* и *b*) к каротиноидам, по сравнению с контролем, выявлено при обработке растений сортов

Сударыня и Trizo штаммом *Ps. fluorescens* SPB2137 – на 10 % и 7 % соответственно, что, по нашему мнению, может быть одним из показателей устойчивости сортов к внешним неблагоприятным факторам и экологической пластичности растений.

С использованием метода главных компонент факторного анализа и критерия вращения – варимакс были определены нормированные факторные нагрузки, характеризующие взаимосвязи между элементами продуктивности пшеницы, интенсивностью поражения растений болезнями и содержанием фотосинтетических пигментов в листьях пшеницы (см. табл.). По результатам расчетов выделены два фактора F₁ и F₂, которые объясняют соответственно 24 % и 21 % общей дисперсии переменных показателей.

В F₁ отмечены следующие тенденции. Возрастание содержания каротиноидов во флаговых листьях пшеницы ($P = -0,73$) приводило к снижению интенсивности развития корневой гнили пшеницы. Растения с повышенной концентрацией каротиноидов характеризовались большим числом ($P = -0,85$) и длиной корней ($P = -0,70$), длиной узловых корней ($P = -0,70$), массой корней ($P = -0,85$), а также отличались меньшим поражением корневой гнилью ($P = 0,75$).

В F₂ показано, что усиление интенсивности поражения пшеницы бурой ржавчиной (по развитию болезни – $P = 0,98$, по числу пустул – $P = 0,98$, по площади пустулы – $P = 0,87$) приводило к снижению массы 1000 зерен пшеницы ($P = -0,72$), при увеличении числа зерен в колосе ($P = 0,91$).

Кроме того, с использованием коэффициентов ранговой корреляции Спирмена установлено повышение интенсивности поражения растений корневой гнилью с увеличением соотношения суммы хлорофилла *a* и *b* к каротиноидам ($r = 0,67$; $P = 0,04$). Более интенсивное развитие на пшенице септориозно-пиренофорозной пятнистости, вызываемой микроскопическими грибами *Stagonospora nodorum* (Berk.) и *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler., приводило к снижению содержания в листьях растений хлорофилла *b* ($r = -0,52$; $P = 0,03$).

Использование органоминерального удобрения Batr Gum и штамма *Ps. fluorescens* SPB2137 в 2022 г. не оказывало существенного влияния на интенсивность развития желтой ржавчины на растениях сорта Ленинградская 6, однако при их совместном применении развитие болезни статистически достоверно снизилось на 31 %, а число пустул – на 44 % (рис. 7). Тенденция повышения эффективности в отношении снижения раз-

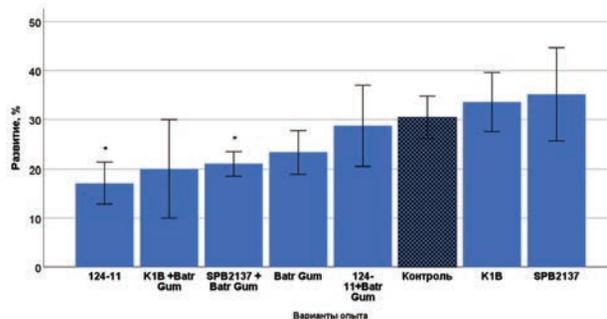


Рис. 7. Интенсивность развития желтой ржавчины пшеницы при применении штаммов ассоциативных ризобактерий, органоминерального удобрения Batr Gum и полифункциональных комплексов на сорте Ленинградская 6 (2022 г.).

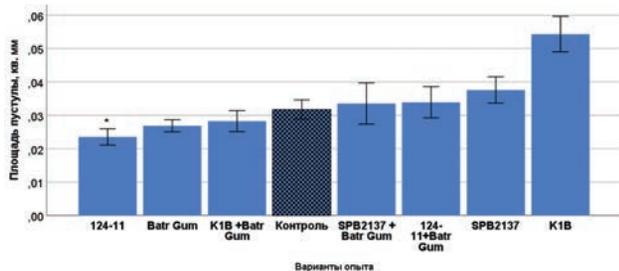


Рис. 8. Площадь пустулы желтой ржавчины при применении штаммов ассоциативных ризобактерий, органоминерального удобрения Batr Gum, полифункциональных комплексов на сорте Ленинградская 6 (2022 г.).

виятия желтой ржавчины (на 34 %) выявлена в варианте опыта с совместным применением Batr Gum и штамма *Sphingomonas* sp. K1B, по сравнению с их раздельным использованием.

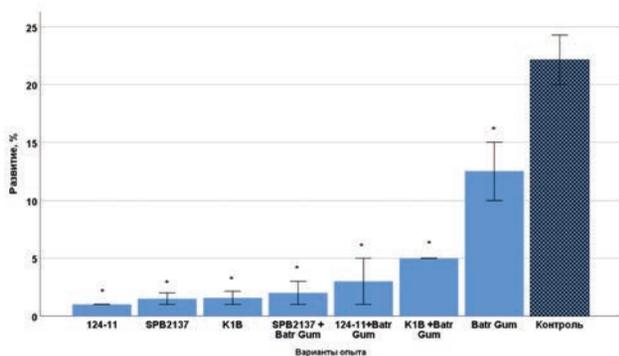


Рис. 9. Интенсивность развития мучнистой росы при применении штаммов ассоциативных ризобактерий, органоминерального удобрения Batr Gum, полифункциональных комплексов (2022 г.).

Максимальная в опыте площадь пустулы желтой ржавчины выявлена в варианте со штаммом *Sphingomonas* sp. K1B (рис. 8). Однако при его совместном использовании с органоминеральным удобрением Batr Gum выявлена тенденция к снижению величины этого показателя. Причем площадь пустулы в варианте с Batr Gum была статистически достоверно меньше, по сравнению с контролем, на 30 %.

Развитие мучнистой росы в варианте с органоминеральным удобрением Batr Gum было существенно меньше, чем в контроле. Его совместное применение со штаммами ассоциативных ризобактерий незначительно снижало эффективность микроорганизмов в отношении развития болезни (рис. 9). Аналогичная тенденция прослеживалась по площади пятен с налетом мучнистой росы, за исключением совместного применения штамма *Ps. fluorescens* SPB2137 и Batr Gum (рис. 10). В этом варианте величина фитопатологического показателя снизилась, по сравнению с контролем, на 78 %, что больше, чем при обработке раствором, содержащим микроорганизмы в чистом виде.

Таким образом, эффективность штаммов ассоциативных бактерий в отношении снижения вредоносности болезней зависела от вида и сорта зерновой культуры, типа патогенеза, формируемого развитием возбудителей болезней, а также использования совместного с ними органоминерального удобрения. Результаты работы подтверждают имеющиеся в литературе сведения, о

том, что максимальный эффект от применения бактериальных препаратов можно обеспечить на основе тщательного выявления тех штаммов, которые в большей степени соответствуют биологическим свойствам исследуемых видов и сортов растений [5, 16]. При этом адаптивный потенциал растений к факторам внешней среды во многом может определяться характером взаимодействия их корневой системы с комплексом микроорганизмов, видовой состав которых зависит от возделываемой культуры [17, 18]. Однако следует учитывать, что развитие растений во времени, в свою очередь, может сопровождаться изменением состава корневых экссудатов и корневых ризодепозитов, что может влиять на численность микроорганизмов, в том числе ризосферных бактерий [5].

Наибольшей в опыте эффективностью в отношении желтой и бурой ржавчины на сортах мягкой пшеницы обладал штамм *B. subtilis* 124-11, тритикале – *Sphingomonas* sp. K1B. Выраженное снижение интенсивности развития мучнистой росы и корневой гнили на мягкой пшенице и тритикале наблюдали при использовании штамма *Sphingomonas* sp. K1B. Кроме того, этот штамм обладал наиболее выраженным защитным действием против развития корневой гнили и комплекса показателей развития бурой ржавчины. Содержание хлорофилла *a* в листьях пшеницы в варианте с *Sphingomonas* sp. K1B увеличилось на 30 %, по сравнению с контролем. Развитие корневой гнили пшеницы уменьшалось с возрастанием концентрации каротиноидов во флаговых листьях пшеницы и снижением соотношения – суммы хлорофилла *a* и *b* к каротиноидам. Эту тенденцию можно объяснить тем, что чем больше содержание каротиноидов в растении, тем больше в нем антиоксидантных веществ, способных ингибировать патогенез, обусловленный развитием корневой гнили. Более интенсивное развитие на растениях септориозно-пиренофорозной пятнистости привело к снижению содержания в листьях хлорофилла *b*.

Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что ассоциативные ризобактерии способны замедлять развитие фитопатогенных микромицетов, с одной стороны, вследствие повышения жизненного статуса растения, в том числе обусловленного увеличением поступления азота, фосфора, калия, с другой – благодаря выделению химических соединений, обладающих фунгицидной активностью, а также вытеснению патогенов посредством подавления их роста [5, 18].

Образование бактериями фитогормонов, витаминов и других биологически активных веществ относится к

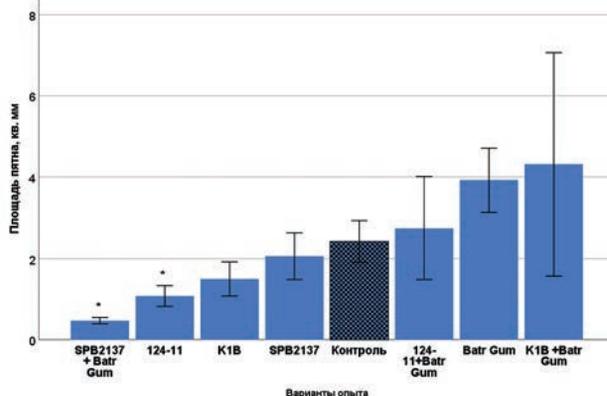


Рис. 10. Площадь пятен с налетом мучнистой росы при применении штаммов ассоциативных ризобактерий, органоминерального удобрения Batr Gum, полифункциональных комплексов (2022 г.).

важнейшим механизмом взаимодействия в растительно-бактериальных ассоциациях [19]. Наибольшей ростостимулирующей активностью обладал штамм *Pseudomonas fluorescens* SPB2137, использование которого определяло увеличение большинства элементов продуктивности пшеницы и существенно повышало содержание хлорофилла *a* и суммарного содержания хлорофилла *a* и *b* в листьях пшеницы – на 49 % и 44 %, по сравнению с контролем, соответственно. Эти процессы сопровождались увеличением числа и длины узловых корней, длины колоса, числа колосков в колосе, массы 1000 зерен растений. Использование штамма *Bacillus subtilis* 124-11 приводило к статистически достоверному росту содержания фотосинтетических пигментов только на сорте Trizo (на 77 % и 59 % соответственно) и сопровождалось существенным ростом только общей кустистости растений. Содержание хлорофилла *b* достоверно не изменялось по сортам и вариантам опыта, однако для сорта Trizo выявлена выраженная тенденция роста величины этого показателя в варианте с *Pseudomonas fluorescens* SPB2137.

Следует отметить, что продуктивность сельскохозяйственных культур, в том числе зерновых, во многом определяют комплекс сложных физиологических (фотосинтез, рост и дыхание) и биохимических процессов, экологические условия и агротехника выращивания, однако главную роль в формировании урожая играет фотосинтез. Оптимизация работы фотосинтетического аппарата на разных уровнях его организации способна повысить урожай зерна на 10...60 % [20].

Совместное применение штаммов *Ps. fluorescens* SPB2137 и *Sphingomonas* sp. K1B с органоминеральным удобрением Batr Gum оказывало больший защитный эффект в отношении желтой ржавчины, чем при их раздельном применении. Обратный эффект отмечали при использовании такой комбинации со штаммом *B. subtilis* 124-11. Совместное применение удобрения Batr Gum со штаммами ассоциативных ризобактерий снижало их эффективность в отношении возбудителя мучнистой росы по интенсивности развития болезни и числу пятен с налетом. Только в варианте со штаммом *Ps. fluorescens* SPB2137 площадь пятна с налетом мучнистой росы снизилась, по сравнению с контролем, на 81 %.

Обмен веществ облигатных паразитов оптимально приспособлен к метаболизму растения-хозяина, а в составе органоминерального удобрения Batr Gum, содержится комплекс химических элементов и соединений, оказывающих ростостимулирующие действие на растения. При применении удобрения повышается жизнеспособность растения, изменяется его элементный состав, что может влиять на устойчивость или восприимчивость к болезням, в том числе генетически детерминированную [21].

Выводы. Ассоциативные ризобактерии снижают поражаемость растений возбудителями болезней. Применение биопрепаратов таких ризобактерий на зерновых культурах будет способствовать сохранению естественных биоценологических связей в агроэкосистемах, а также баланса между их составными компонентами. Однако эффективность ассоциативных ризобактерий нестабильна и зависит от многих факторов.

Литература

- Лысов А.К., Павлюшин В.А. Фитосанитарное проектирование агроэкосистем и дистанционное зондирование // *Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса*. 2022. Т. 19. № 5. С. 101–112.
- Формирование агроэкосистемы становление сообществ вредных видов биотрофов / В.А. Павлюшин, Н.А. Вилкова, Г.И. Сухорученко и др. // *Вестник защиты растений*. 2016. № 2 (88). С. 5–15.
- Тихонович И.А., Проворов Н.А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: фундаментальные и прикладные аспекты // *Сельскохозяйственная биология*. 2011. Т.46. № 3. С.3–9.
- Павлюшин В.А., Новикова И.И., Бойкова И.В. Микробиологическая защита растений в технологиях фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: теория и практика (обзор) // *Сельскохозяйственная биология*. 2020. Т.55. № 3. С. 421–438.
- Ароматические карбоновые кислоты корневых экссудатов ячменя и их влияние на рост *Fusarium culmorum* и *Pseudomonas fluorescens* / А.И. Шапошников, В.Ю. Шахназарова, Н.А. Вишневецкая и др. // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2020. Т. 56. № 3. С. 292–300.
- Ризосферные бактерии / Н.В. Феоктистова, А.М. Марданова, Г.Ф. Хадиева и др. // *Ученые записки казанского университета. Серия естественные науки*. 2016. 158 (2). С. 207–224.
- Гвоздева М.М., Волкова Г.В. Защита озимой пшеницы от комплекса заболеваний в условиях центральной зоны Краснодарского края с преимущественным использованием биологических фунгицидов // *Достижения науки и техники АПК*. 2022. Т. 36. № 3. С. 18–25.
- Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning / J. Vacheron, G. Desbrosses, M.L. Bouffaud, et al. // *Front Plant Sci*. 2013. № 4. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2013.00356/full> (дата обращения: 22.12.2022).
- Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment / S. Fahad, S. Hussain, A. Bano et al. // *Environmental Science and Pollution Research*. 2015. Vol. 22. P. 4907–4921.
- Tak H. I., Ahmad F., Babalola O. O. Advances in the application of plant growth-promoting rhizobacteria in phytoremediation of heavy metals // *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 2013. Vol. 223. P. 33–52.
- Characterization of the microbial communities in wheat tissues and rhizosphere soil caused by dwarf bunt of wheat / T.Xu, W.Jiang, D. Qin, et al. // *Scientific Reports*. 2021. № 11. URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-85281-8#citeas> (дата обращения: 23.12.2022).
- Studies on the control effect of *Bacillus subtilis* on wheat powdery mildew / D. Xie, X. Cai, C. Yang, et al. // *Pest Management Science*. 2021. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.6471> (дата обращения: 23.12.2022).
- Garcia-Fraile P., Menendez E., Rivas R. Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry // *AIMS Journal*. 2015. Vol. 2. P. 183–205.
- Identification of the effectiveness of associative rhizobacteria in spring wheat cultivation / L.E. Kolesnikov, A.A. Belimov, E.Y. Kudryavtseva, et al. // *Agronomy Research*. 2021. Vol. 19. No. 3. P. 1530–1544.
- Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. 429 с.
- Исследование эффективности штаммов ассоциативных ризобактерий в посевах различных видов рас-

- тений / Г.А. Воробейков, Т.К. Павлова, С.В. Кондрат и др. // Известия Российского государственного педагогического университета им. А. И. Герцена. 2011. № 141. С. 114–123.
17. Молекулярный анализ микробных сообществ ризосфер злаков, выращенных на контрастных почвах / А.О. Зверев, Е.В. Першина, В.М. Шапкин и др. // Микробиология. 2020. Т. 89. №2. С. 235–246. doi: 10.31857/s0026365620010188.
18. Роль корневых экссудатов ячменя как источника питания во взаимоотношениях между *Fusarium culmorum* и *Pseudomonas fluorescens* / А.И. Шапошников, Н.А. Вишневецкая, В.Ю. Шахназарова и др. // Микология и фитопатология. 2019. Т. 53. № 5. С. 311–318.
19. Взаимодействие ризосферных бактерий с растениями: механизмы образования и факторы эффективности ассоциативных симбиозов (обзор) / А.И. Шапошников, А.А. Белимов, Л.В. Кравченко и др. // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 3. С. 16–22.
20. Furbank R.T., Quick W.P., Sirault X.R.R. Improving photosynthesis and yield potential in cereal crops by targeted genetic manipulation: prospects, progress and challenges // Field crops research. 2015. Vol. 182. P.19–29.
21. Масс-спектральный анализ содержания некоторых химических элементов во флаговых листьях у изогенных линий пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с различной устойчивостью к бурой ржавчине / Л.Е. Колесников, О.И. Бурова, Ю.Р. Колесникова и др. // Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53. № 1. С. 72–84.

Поступила в редакцию 12.12.2022

После доработки 27.12.2022

Принята к публикации 12.01.2023

Агрочововедение и агроэкология

УДК 631.4

DOI: 10.31857/S250026272301009X, EDN: PEDBEI

ДЕПОНИРОВАНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО УГЛЕРОДА В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ СУПЕСЧАНОЙ ПОЧВЕ**Л. В. Бойцова**, кандидат биологических наук, **С. В. Непримерова**, **Е. Г. Зинчук**Агрофизический научно-исследовательский институт,
195220, Санкт-Петербург, Гражданский просп., 14
E-mail: larisa30.05@mail.ru

Исследование проводили с целью изучения депонирования органического вещества в илстой фракции дерново-подзолистой супесчаной почвы разной степени окультуренности. Объект исследований – дерново-подзолистая супесчаная почва средней (СОК) и высокой (ВОК) степени окультуренности (Ленинградская область). Содержание органического вещества определяли по методу И.В. Тюрина. Илстую фракцию почвы (<1 мкм) выделяли путем седиментации и центрифугирования. Рентгенографический анализ почвенных минералов илстой фракции проводили на рентгеновском дифрактометре ДРОН-ЗМ, трубка Си К, режим 30 мА, 30 кВ, от 3,5 до 75 градусов, скорость вращения гониометра 1° в минуту. Достоверно большее ($p < 0,0001$) содержание общего органического углерода в пахотном горизонте ВОК почвы на уровне 28,0 г/кг почвы отмечали в мае и августе. Величина этого показателя была выше, чем в СОК почве, в 2 раза. Достоверно ($p < 0,01$) наибольшее содержание углерода, связанного с илстой фракцией (C_{clay}), в течение вегетационного сезона отмечено в ВОК почве – 82,33...97,51 г/кг фракции, что выше, чем в варианте СОК, в 1,2...1,4 раза. Наибольший коэффициент обогащения органическим веществом илстой фракции отмечен в СОК почве, где он был равен 4,08...4,79, в то время как в ВОК почве, величина этого показателя варьировала в диапазоне 2,95...3,69. В среднеокультуренной почве в большей степени в секвестрации органических соединений участвовали диоктаэдрические слюды и хлорит. Между их содержанием и C_{clay} выявлены достоверные положительные корреляционные связи ($r = 0,83$). В высококультуренной почве аналогичная ситуация отмечена для калиевых полевых шпатов ($r = 0,99$). Для СОК почвы установлена достоверная взаимосвязь содержания C_{clay} с температурой ($r = -0,84$) и влажностью ($r = -0,91$) почвы. В целом она обладала большей депонирующей способностью, по сравнению с ВОК почвой.

SEQUESTRATION OF ORGANIC CARBON IN SODDY-PODZOLIC SANDY SOIL**L. V. Boitsova**, **S. V. Neprimerova**, **E. G. Zinchuk**Agrophysical Research Institute,
195220, St. Petersburg, Grazhdansky prosp., 14
E-mail: larisa30.05@mail.ru

The study was carried out in order to study the deposition of organic matter in the clay fraction of soddy-podzolic sandy loamy soil of varying degrees of cultivation. The object of research is soddy-podzolic sandy loamy soil of medium (MDC) and high (HDC) degree of cultivation (Leningrad region). Determination of organic matter was carried out according to the method of Tyurin I.V. The isolation of the clay fraction of the soil (<1 μm) was carried out using sedimentation and centrifugation. X-ray analysis of soil minerals in the clay fraction was carried out on a DRON-ZM X-ray diffractometer, Cu Ka tube, mode 30 mA, 30 kV, from 3.5 to 75 degrees, goniometer rotation speed 1° per minute. A significantly larger ($p < 0,0001$) amount of total organic carbon in the arable horizon of the HDC of the soil, about 28,0 g/kg of soil, was recorded in May and August, which exceeded the content of total organic carbon in the soil of the MDC by 2 times. The highest absolute values in relation to carbon associated with the clay fraction (C_{clay}) during the growing season were significantly ($p < 0,01$) in the soil of the HDC 82,33...97,51 g/kg of the fraction. The excess amounted to 1,2-1,4 times compared with the MDC option. The highest coefficient of enrichment with organic matter of the clay fraction was observed in the MDC soil, where it was 4,08...4,79, while in the HDC soil, its value varied in the range of 2,95...3,69. The predominant depositing role of dioctahedral micas and chlorite in moderately cultivated soil ($r = 0,83$) and potassium feldspars in highly cultivated soil ($r = 0,99$) was revealed. Correlation analysis revealed a significant relationship between the content of C_{clay} and soil temperature ($r = -0,84$), C_{clay} and soil moisture ($r = -0,91$) for soil MDC. The MDC soil had the highest depositing capacity compared to the HDC soil.

Ключевые слова: илстая фракция, рентгенографический анализ, коэффициент обогащения, степень окультуренности.

Key words: clay fraction, X-ray analysis, enrichment factor, degree of cultivation.

Углерод как основная составляющая почвенного органического вещества может находиться в почве в лабильных и стабильных фракциях [1]. Фракция песка связана со свободным или лабильным органическим веществом [2], более стабильная фракция чаще присутствует в иле и пыли [3, 4]. На закрепление органического вещества почвы влияет вид минералов [5], особенно глинистые. Они способствуют поглощению органических и питательных веществ, обеспечивают повышенную буферную способность почвы, снижают доступность органического вещества для деструкторов [6, 7, 8]. Специфичная поверхность каолинита составляет 6...40 м²/г, смектита и вермикулита – до 800 м²/г [9]. Таким образом, в почвах с высоким содержанием глины

происходит большая иммобилизация органического углерода [10, 11, 12].

Цель исследований – определение влияния степени окультуренности дерново-подзолистой супесчаной почвы на депонирование углерода.

Методика. Работу проводили на стационаре Меньковского филиала Агрофизического научно-исследовательского института (Ленинградская область, Гатчинский район). Отбор образцов осуществляли в мае 2018 г. до начала полевых работ, после чего на участках выращивали яровую ячмень (*Hordeum vulgare* L.) и в течение вегетационного периода 2019 г. в посеве вико-овсяной смеси (вика посевная яровая (*Vicia sativa* L.) сорта Львовский и овес яровой (*Avena sativa* L.) сорта

Боррус в соотношении 30:70 %). Объединённую пробу формировали из индивидуальных, которые отбирали методом конверта с площадок размером 2×2 м с глубины 0...15 см пахотного горизонта дерново-подзолистой супесчаной среднекультуренной (СОК) и высококультуренной (ВОК) почвы по стандартной методике с использованием почвенного бура [13].

На участке СОК органические удобрения не вносили, на участке ВОК в 2003–2012 гг. было внесено 760 т/га навоза крупного рогатого скота, в 2016 г. куриный помет в дозе 70 т/га. Агрохимические показатели среднекультуренной почвы – $pH_{KCl} = 5,3$, $C_{орг} = 1,38\%$, $N_{орг} = 0,17\%$; высококультуренной почвы – $pH_{KCl} = 6,4$, $C_{орг}^{общ} = 2,78\%$; $N_{орг}^{общ} = 0,28\%$. Содержание физической глины (частиц < 0,001 мм) составляло соответственно 12...15 % и 19 %.

Среднесуточная температура воздуха в мае 2019 г. составляла 11,4 °С, в июле – 15 °С, в августе – 16 °С, сумма осадков – соответственно 82,9, 172,6 и 60,9 мм. Среднесуточная температура воздуха в мае 2018 г. была равна 14 °С, сумма осадков – 17,1 мм.

Содержание общего органического углерода ($C_{орг}$) и углерода, ассоциированного с илистой фракцией ($C_{ил}$) определяли по методу Тюрина [14]. Выделение илистой фракции почвы (<1 мкм) осуществляли с использованием седиментации и центрифугирования по методике, подробно описанной в работе [15]. Влажность почвы определяли термостатно-весовым методом [14], температуру почвы – с использованием электронных датчиков iButton DS 1921 (Dallas Semiconductor, США), установленных на глубине 10 см. Рентгенографический анализ илистой фракции почвенных минералов проводили на рентгеновском дифрактометре ДРОН-3М, трубка Cu K_α, режим 30 мА, 30 кВ, от 3,5 до 75°, скорость вращения гониометра 1° в минуту. Для определения минералогического состава образцов использовали стандартные таблицы [16]. Процесс накопления углерода в почве оценивали с использованием коэффициента обогащения углеродом илистой фракции почвы [17].

$$E_{soc} = C_{фракции} / C_{орг}^{общ}$$
 где $C_{фракции}$ – содержание углерода, % от массы фракции, $C_{орг}^{общ}$ – содержание общего органического углерода, % от массы почвы.

Статистическая обработка результатов предусматривала расчет средних, стандартных отклонений и коэффициентов корреляции Пирсона. Достоверность различий между средними оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) при уровне значимости $p < 0,05$.

В мае 2018 г. температура почвы на участке СОК составляла 13,37 °С, ВОК – 12,04 °С, влажность почвы соответственно 4,5 и 5,8 %. В 2019 г. температура варьировала в диапазонах соответственно 12,41...21,97 °С и

11,56...22,09 °С с максимальными значениями в августе, влажность почвы – 6,0...14,5 % с максимумом в середине августа и 8,7...20,8 % с максимумом в середине июля.

Результаты и обсуждение. Содержание $C_{орг}$ в мае 2019 г. в варианте СОК было ниже, чем в мае 2018 г., на 10,6 % и $C_{ил}$ – выше на 5 % (табл. 1), ВОК почве наблюдали обратную картину при этом разница была равна 8,7 и 1,6 %. Вероятно, такое распределение по годам связано с температурой и влажностью почвы, сочетание которых в мае 2019 г. способствовало увеличению биологической активности почвы, по сравнению с маем 2018 г., что привело к изменению содержания $C_{орг}$. Однако в варианте СОК, где изначально содержание $C_{орг}$ было ниже, чем в варианте ВОК, наблюдался его больший расход. Увеличение содержания $C_{ил}$ в почве СОК, по сравнению с ВОК, связано с большим содержанием минералов, в этой почве, способствующих закреплению органического вещества.

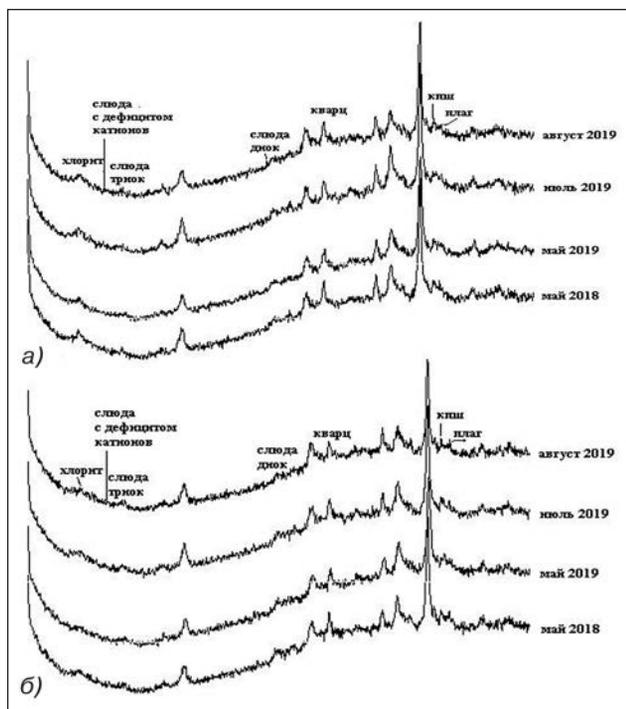
Анализ данных, полученных в 2019 г., продемонстрировал незначительное изменение содержания $C_{орг}$ в обоих вариантах к окончанию периода наблюдений, относительно его начала. При этом достоверно большее количество общего органического углерода в пахотном горизонте ВОК почвы зафиксировано в мае и августе ($p < 0,0001$), в июле наблюдали незначительное уменьшение его содержания. Пахотный горизонт СОК почвы характеризовался максимальной величиной $C_{орг}$ в июле, в мае и августе она оставалась на одном уровне. Можно предположить, что такие изменения в ВОК почве связаны с ее большей биогенностью из-за изначально повышенного содержания органического вещества.

В пахотном горизонте ВОК почвы отмечено достоверно большее содержание $C_{ил}$ ($p < 0,01$), по сравнению с вариантом СОК. Превышение составило 1,2...1,4 раза. Максимальные величины в обоих вариантах зафиксированы в июле. Вероятно, это связано с увеличением полифенолоксидазной активности почвы [18], в результате сложившихся благоприятных почвенных условий и, как следствие, повышением коэффициента гумификации, который представляет собой отношение содержания полифенолоксидазы и пероксидазы. По нашим неопубликованным данным коэффициент гумификации для почвы СОК в июле составлял 0,41, для ВОК – 0,55, в то время как в мае он был равен 0,28 и 0,35 соответственно. Полифенолоксидаза – почвенный фермент, способствующий накоплению гумусовых веществ, пероксидаза – фермент, участвующий в минерализации органических веществ. Их соотношение зависит от влажностных и температурных условий почвенной среды и влияет на накопление гумусовых веществ в почве. С увеличением полифенолоксидазной активности, вероятно, связано и повышение содержания $C_{орг}$ в почве СОК, по сравнению с почвой ВОК.

Оценивая депонирующую способность илистой фракции почвы по показателю E_{soc} (см. табл. 1), можно отметить наибольший коэффициент обогащения в СОК почве. Можно предположить, что такая ситуация связана с обогащением илистой фракции устойчивыми органическими соединениями, вследствие их ассоциации с почвенными минералами. Это согласуется с данными, полученными для нативной дерново-подзолистой супесчаной почвы [19]. По результатам рентгенографического анализа СОК почва в большей степени, чем ВОК, обогащена минералами, особенно группы слюд, которые относятся к глинистым минералам (табл. 2). Они отличаются большей удельной поверхностью, по сравнению с первичными минералами, что в свою очередь способствует лучшему закреплению и защите от разложения

Табл. 1. Содержание $C_{орг}$, $C_{ил}$, значения E_{soc} в дерново-подзолистой супесчаной почве средней степени и высокой степени окультуренности

Год	Вариант	Период	$C_{орг}$, г/кг почвы	$C_{ил}$, г/кг фракции	E_{soc}
2018	СОК	май	15,54±0,6	63,43±1,4	4,08
	ВОК		25,57±0,8	83,65±2,1	3,27
2019	СОК	май	13,89±0,5	66,57±3,0	4,79
		июль	18,27±0,5	73,82±3,1	4,04
		август	14,20±0,1	63,44±2,5	4,47
	ВОК	май	27,8±0,3	82,33±0,3	2,95
		июль	26,4±0,7	97,51±0,6	3,69
		август	28,0±1,1	91,26±0,04	3,25



Рентгенограммы дерново-подзолистой супесчаной почвы среднекультуренной и высококультуренной (по горизонтали – угол 2θ от 3 до 34°, по вертикали – интенсивность пиков, $\text{имп}\cdot\text{с}^{-1}$; подписаны диагностические пики основных минералов – хлорита, слюд с дефицитом катионов, триоктаэдрической и диоктаэдрической, кварца, калиевого полевого шпата и плагиоклаза): а) среднекультуренная почва Анах, иллитная фракция; б) высококультуренная почва Анах, иллитная фракция.

органических веществ. Уменьшение E_{soc} в ВОК почве, вероятно, связано с опережающим накоплением $C_{\text{орг}}$ по сравнению со скоростью фиксации углерода иллитной фракцией. Возможно, это происходит из-за увеличения содержания легкой фракции органического вещества, что наблюдается при внесении навоза и помета [20]. Кроме того, можно предположить, что для закрепления органических частиц, дополнительным источником которых служило органическое удобрение, было недостаточно поверхности сорбции минералов в составе ее иллитной фракции [21, 22].

Достоверная взаимосвязь депонирования $C_{\text{ил}}$ с температурой ($r=-0,84$) и влажностью ($r=-0,91$) почвы была отмечена в варианте СОК. Между температурой,

влажностью почвы и накоплением $C_{\text{орг}}$ отмечена средняя достоверная корреляция для обоих вариантов. При этом для СОК почвы она была отрицательной (соответственно $r=-0,59$ и $-0,55$), для ВОК положительной ($r=0,62$ и $0,53$).

Рентгенографический анализ минералогического состава иллитной фракции выявил (см. рисунок), что к основным минералам иллитных фракций исследуемых почв относятся первичные почвенные минералы (калиевые полевые шпаты, плагиоклазы и кварц).

Количество хлоритов (качественное содержание минералов можно оценить по интенсивности пика на рентгенограмме, которая зависит не только от количества, но и от структуры конкретного минерала, поэтому количественное сравнение содержания разных минералов в одном образце не возможно, доступно только сравнение содержания одного и того же минерала в разных образцах) в иллитной фракции среднекультуренной почвы было значительно больше, чем в высококультуренной. При этом к августу 2019 г. зафиксировано уменьшение количества хлоритов в СОК почве, а в ВОК, напротив, увеличение. Рост их содержания в иллитной фракции связан с разрушением хлоритов крупных фракций и более интенсивным преобразованием других минералов в хлориты [23]. Это указывает на деградацию минеральной части почвы.

Слюды в почве присутствуют в трех модификациях: с дефицитом катионов, триоктаэдрическая и диоктаэдрическая. Диоктаэдрические слюды представлены в почве в наибольшем количестве (см. табл. 2). Слюды триоктаэдрические менее устойчивы, чем диоктаэдрические [24], в процессе их преобразования образуются слюды с дефицитом катионов. Общее содержание слюд иллитной фракции в почвах обеих степеней окультуренности к августу 2019 г. выросло, по сравнению с весной 2018 г. и 2019 г. Это происходит в результате разрушения более крупных фракций. В почве СОК, отобранной в июле 2019 г., зафиксировано максимальное количество диоктаэдрической слюды в иллитной фракции при минимальном содержании калиевых полевых шпатов, что, возможно, связано с серицизацией полевых шпатов (преобразованием зерен полевого шпата в серицит – диоктаэдрическую слюду). Вероятно, при дефиците калия в почве активизируется химическое выветривание минералов, поэтому такой процесс наблюдается в СОК почве и не зафиксирован в ВОК почве.

Кварц считается самым устойчивым минералом в почве, но и он подвержен изменениям [25]. В иллитной фракции высококультуренной почвы наблюдали уменьшение количества кварца с максимального в мае 2018 г. к минимальному в августе 2019 г., а в среднекультуренной – в августе 2019 г. величина этого показателя находилась на уровне мая 2018 г., а в мае и июле 2019 г.

Табл. 2. Минералогическая таблица диагностических пиков основных минералов почвы, $\text{имп}\cdot\text{с}^{-1}$

Месяц (год)	Хлорит	Слюда с дефицитом катионов	Слюда триоктаэдрическая	Слюда диоктаэдрическая	Кварц	КПШ	Плагиокл
Среднекультуренная почва							
Май (2018)	85	61	77	382	674	754	566
Май (2019)	94	57	42	275	571	690	468
Июль (2019)	96	54	52	430	527	503	536
Август (2019)	69	64	92	321	672	569	525
Высококультуренная почва							
Май (2018)	48	60	57	162	649	437	566
Май (2019)	53	34	56	302	573	406	596
Июль (2019)	54	44	52	263	597	641	639
Август (2019)	62	59	76	311	522	562	872

она понижалась (см. табл. 2). Уменьшение содержания кварца в илистой фракции объясняется его разрушением, растения могут извлекать необходимый для их развития кремний даже из такого устойчивого минерала. Однако это основной минерал в изучаемых почвах, его много во всех фракциях, в результате илистая фракция пополняется благодаря измельчению более крупных фракций.

Калиевые полевые шпаты (КПШ) могут использоваться растениями как дополнительный источник калия при его недостатке в почве. В высококультуренной почве мае 2018 и 2019 гг. содержание КПШ в илистой фракции было меньше, чем в среднекультуренной. Однако в июле и августе 2019 г. илистая фракция ВОК почвы обогащалась этим минералом, а СОК почвы, напротив, обеднялась (см. табл. 2). Скорее всего, первое связано с измельчением минералов крупных фракций, так как в ВОК почве более агрессивные почвенные растворы, стимулирующие процессы разрушения крупных фракций минералов, а второе – с интенсивным разрушением минералов илистой фракции растениями, в СОК почве, вероятно, недостаточно калия для роста растений, которые используют его из минеральной составляющей почвы.

Плагиоклазы содержат в кристаллической решетке кальций, они выветриваются легче, чем КПШ, и могут служить источником этого элемента для растений в случае его дефицита. Изначально, в мае 2018 г. содержание плагиоклазов в илистой фракции почв обеих степеней окультуренности находилось на одном уровне. В 2019 г. в СОК почве наблюдали уменьшение содержания плагиоклазов к окончанию вегетационного периода, в ВОК – увеличение (см. табл. 2). Этот факт, объясняется теми же причинами, что и изменение содержания калиевых полевых шпатов в течение сезона. А именно тем, что недостаток необходимых для роста растений элементов в СОК почве приводит к разрушению минералов в тонких фракциях, а в ВОК почве такого недостатка нет, поэтому илистая фракция обогащается благодаря разрушению более крупных фракций. Естественно, оба процесса происходят во всех почвах, но более интенсивно разрушение минералов илистой фракции идет в СОК почве, а крупных фракций – в ВОК. В СОК почве слюда диоктаэдрическая и хлорит участвовали в секвестрации органических соединений в большей степени, чем другие изученные минералы. Между их содержанием и $S_{ил}$ выявлены достоверные положительные корреляционные связи ($r = 0,83$). В почве ВОК установлены достоверные положительные корреляционные связи между $S_{ил}$ и содержанием калиевых полевых шпатов ($r = 0,99$).

Выводы. Таким образом, наибольшим абсолютным количеством углерода, ассоциированного с илистой фракцией почв, в течение вегетационного сезона характеризуется высококультуренная почва. Самый высокий коэффициент обогащения органическим веществом илистой фракции отмечен в среднекультуренной почве.

В среднекультуренной почве преимущественную депонирующую роль играют диоктаэдрические слюды и хлориты, в высококультуренной – калиевые полевые шпаты.

Температура и влажность почвы оказывают значимое влияние на накопление общего органического углерода в почве в обоих вариантах опыта, а также органического углерода в илистой фракции среднекультуренной почвы.

Литература

1. *Hot regions of labile and stable soil organic carbon in Germany – Spatial variability and driving factors /*
2. *Carbon saturation in the silt and clay particles in soils with contrasting Mineralogy / F. Matus, E. Garrido, C. Hidalgo, et al. // Terra Latinoamericana. 2016. Vol. 34. P. 311-319.*
3. *Distribution of organic carbon in different soil fraction in ecosystems of central Amazonia / J.D. O. Marques, F.J. Luiza, W.G. Teixeira, et al. // Rev. Bras. Ciênc. Solo. 2015. Vol. 39 (1). P. 2-9. doi: 10.1590/01000683rbcsc20150142.*
4. *Латышева Л.А. Роль органического вещества илистой фракции в динамике качественного состава гумуса буроземов острова Рейнеке // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2015. № 3 (31). С. 17–26. doi: 10.17223/19988591/31/2.*
5. *Stabilization of soil organic carbon as influenced by clay mineralogy / M. Singh, B. Sarkar, S. Sarkar, et al. // Advances in Agronomy. 2017. Vol. 148. P. 38-84. doi: 10.1016/bs.agron.2017.11.001.*
6. *Ванюшина А.Я., Травникова Л.С. Органо-минеральные взаимодействия в почвах (обзор литературы) // Почвоведение. 2003. №4. С. 418-428.*
7. *Травникова Л.С., Титова Н.А., Шаймухаметов М.Ш. Роль продуктов взаимодействия органической и минеральной составляющих в генезисе и плодородии почв // Почвоведение. 1992. № 10. С. 81 – 96.*
8. *Dynamic inter actions at the mineral–organic matter interface / M. Kleber, I.C. Bourg, E.K. Coward, et al. // Nat Rev Earth Environ. 2021. Vol. 2. P. 402-421. doi: 10.1038/s43017-021-00162-y.*
9. *The sorption of organic carbon onto differing clay minerals in the presence and absence of hydrous iron oxide / A. Saïdy, R. Smernik, J. Baldock, et al. // Geoderma. 2013. Vol. 209-210. P. 15–21.*
10. *The role of clay content and mineral surface area for soil organic carbon storage in an arable toposequence / S.A. Schweizer, C.W. Mueller, C. Höschel, et al. // Biogeochemistry. 2021. Vol. 156. P. 401–420.*
11. *Козыт Б.М., Семенов В.М. Оценка насыщенности почвы органическим углеродом // Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева. 2020. Вып. 102. С. 103–124. doi: 10.19047/0136-1694-2020-102-103-124.*
12. *Gougoulias C., Clark J. M., Shaw L. J. The role of soil microbes in the global carbon cycle: tracking the below-ground microbial processing of plant-derived carbon for manipulating carbon dynamics in agricultural systems // J Sci Food Agric. 2014. Vol. 94(12). P. 2362–2371. doi: 10.1002/jsfa.6577.*
13. *Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1979. 419 с.*
14. *Тюрин И.В. Органическое вещество почв и его роль в почвообразовании и плодородии. Учение о почвенном гумусе. М.: ЕЭ Медиа, 2012. С. 290.*
15. *Растворова О. Г. Физика почв (практическое руководство). 1983. Л.: ЛГУ, 195 с.*
16. *Рентгеновские методы изучения и структура глинистых минералов / под ред. Г. Брауна (перевод под ред. Франк-Каменецкого В. А.). М: Мир, 1965. 600 с.*
17. *Christensen B.T. Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates // Advances in Soil Science. 1992. Vol. 20(1). 90 p.*
18. *Изменчивость полифенолоксидазной и пероксидазной активности агродерново-подзолистой почвы разной окультуренности с биоуглем / Е.Я. Рижия, Л.В. Бойцова, В.Е. Вертебный и др. // Сельскохозяй-*

- ственная биология. 2022. Т. 57. № 3. С. 476-485. doi: 10.15389/agrobiology.2022.3.476rus.
19. Бойцова Л.В., Зинчук Е.Г., Непримерова С.В. Исследование секвестрации органического вещества в почвах разной степени гидроморфизма // Проблемы агрохимии и экологии. 2017. № 4. С. 48-53.
20. Балашиов Е.В., Бурова А.В., Банкина Т.А. Сезонная динамика водопрочных агрегатов в зависимости от содержания соединений углерода и биологической активности // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер. 3. 2010. Вып. 3. С. 125-133.
21. Бойцова Л.В., Непримерова С.В. Секвестрирование органического вещества в дерново-подзолистой супесчаной почве // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2018. №6. С. 24-27. doi: 10.30850/vrsn/2018/6/24-27.
22. Stability and storage of soil organic carbon in a heavy-textured Karst soil from south-eastern Australia / A. E. Hobley, G.R. Willgoose, S. Frisia, et al. // Soil Research. 2014. Vol. 52(5). P. 476-482. doi: 10.1071/SR13296.
23. Чижикова Н.П., Варламов Е.Б., Савич В.И. Поведение минералов при внесении различных доз органических удобрений в агродерново-подзолистой почве. // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. 2014. Вып. 76. С.91-110.
24. Толпеишта И.И., Соколова Т.А., Изосимова Ю.Г. Краткострочные изменения биотита различных гранулометрических фракций в подзолистой почве в полевом модельном эксперименте // Почвоведение. 2019. № 10. С. 1211-1224.
25. Изменение гранитного щебня при длительном выращивании растений в регулируемых условиях / Е. И. Ермаков, Т. С. Зверева, О. В. Рыбальченко и др. // Доклады Российской академии. 1998. № 4. С. 20-22.

Поступила в редакцию 14.09.2022

После доработки 24.10.2022

Принята к публикации 30.11.2022

ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ КОРНЕВЫХ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ*

Я.В. Пухальский¹, С.И. Лоскутов², кандидат сельскохозяйственных наук, Н.И. Воробьев¹, М.А. Чукаева³, Д.О. Нагорнов³, кандидаты технических наук, А.И. Шапошников¹, Т.С. Азарова¹, А.П. Кожемяков¹, кандидаты биологических наук

¹Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии,
196608, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3
E-mail: puhalskyan@gmail.com

²Всероссийский НИИ пищевых добавок – филиал Федерального научного центра пищевых систем
им. В.М. Горбатова Российской академии наук,
191014, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55

³Санкт-Петербургский горный университет,
199106, Санкт-Петербург, 21-я линия В.О., 2

Методом ВЭЖХ анализа проведена сравнительная оценка изменения качественных и количественных показателей биохимического состава низкомолекулярных корневых экзометаболитов у трех разных генотипов гороха посевного (SGE, SGECdt и Софья) на раннем этапе вегетации под влиянием внесения в среду токсичных концентраций тяжелых металлов в виде хлоридов (кадмия и/или кобальта – 4 мМ / 40 мМ). Загрязнение питательного субстрата солями тяжелых металлов вызвало увеличение суммарного выхода сахаров и аминокислот у генотипов SGE и SGECdt. У сорта Софья этот эффект проявлялся только в отношении сахаров. Статистически значимой разницы в общем выходе органических кислот между тремя генотипами не наблюдали. Кластерный анализ и анализ главных компонент выделил уникальный мутант гороха SGECdt на фоне других генотипов при совместном введении в питательную среду солей обоих тяжелых металлов. Фрактальный анализ степени структурированности корневой эксудации на примере наибольшей по числу входящих в нее компонентной фракции аминокислот, показал, что значения коэффициентов корреляции демонстрируют возрастание суммарной биомассы растений при уменьшении индексов биосистемной детерминированности. Наименьший показатель индекса консолидации растительной системы в отсутствие стресса выявлен у сорта Софья. Под воздействием ТМ величина этого показателя никак не менялась, что может указывать на стагнацию роста растения и переход его к состоянию близкому к анабиозу. Об этом же можно судить исходя из данных ингибирования роста у генотипа и снижения выхода аминокислот. В присутствии ТМ по отдельности индекс детерминированности на горохе SGE индивидуально снижался, а у мутанта SGECdt, наоборот, повышался. Совместное действие металлов на SGECdt было мультипликативным. По этим показателям можно судить о том, что растение затрачивает больше сил для привлечения потенциальной полезной микрофлоры с целью образования эффективного симбиоза и успешного противодействия металл-индуцированному стрессу.

EFFECT OF HEAVY METALS ON CHANGES IN THE BIOCHEMICAL PROFILE OF PEA ROOT EXUDATES

Puhalsky J.V.¹, Loskutov S.I.², Vorobyov N.I.¹, Shaposhnikov A.I.¹, Chukaeva M.A.³, Nagornov D.O.³, Azarova T.S.¹, Kozhemyakov A.P.¹

¹All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology,
196608, Sankt-Peterburg, Pushkin, sh. Podbel'skogo, 3
E-mail: puhalskyan@gmail.com

²VNIIPD – a branch of the Federal Scientific Center for Food Systems named after V.M. Gorbatova Russia Academy of Sciences,
191014, Sankt-Peterburg, Liteiny pr., 55

³Saint Petersburg Mining University,
199106, Sankt-Peterburg, 21-ya liniya V.O., 2

By HPLC analysis, a comparative assessment of changes in the qualitative and quantitative indicators of the biochemical composition of low molecular weight root exometabolites in three different genotypes of peas (SGE, SGECdt and Sofya) at an early stage of vegetation under the influence of introducing into the environment toxic concentrations of heavy metals in the form of chlorides (cadmium and/or cobalt – 4 мМ / 40 мМ). Contamination of the nutrient substrate with salts of heavy metals caused an increase in the total yield of sugars and amino acids in the SGE and SGECdt genotypes. In the variety Sofya, this effect was manifested only in relation to sugars. No statistically significant difference was found in the total yield of organic acids between the three genotypes. Cluster analysis and principal component analysis identified a unique pea mutant SGECdt against the background of other genotypes with the joint introduction of salts of both heavy metals into the nutrient medium. A fractal analysis of the degree of structuredness of root exudation, using the example of the largest fraction of amino acids in terms of the number of components included in it, showed that the values of the correlation coefficients demonstrate an increase in the total plant biomass with a decrease in the indices of biosystemic determination. The lowest indicator of the plant system consolidation index in the absence of stress was found in the variety Sofya. Under the influence of HM, this numerical value did not change in any way, which may indicate the stagnation of plant growth and the transition to a state close to anabiosis. This can also be judged from the data of growth inhibition in the genotype and a decrease in the yield of amino acids. In the presence of HMs individually, the index of determination on pea SGE individually decreased, while in the SGECdt mutant, on the contrary, it increased. The combined effect of metals on SGECdt was multiplicative.

*статья подготовлена в рамках выполнения Государственного задания № FGEW-2021-0004: «Выделение, изучение и скрининг перспективных штаммов симбиотических, ассоциативных бактерий и грибов арбускулярной микоризы, для создания высокоэффективных и технологичных биопрепаратов широкого спектра действия и разработка подходов к созданию комбинированных биопрепаратов на основе геномного анализа и подбора штаммов, обладающих комплементарными наборами генов, ответственных за эффективное взаимодействие с растениями».

Based on these indicators, it can be judged that the plant spends more energy to attract potential beneficial microflora in order to form an effective symbiosis and successfully counter metal-induced stress.

Ключевые слова: *Pisum sativum L.*, *SGECDt*, металлы, корневые экзометаболиты, гидросветокультура, индекс биосистемной детерминированности.

Key words: *Pisum sativum L.*, *SGECDt*, metals, root exometabolites, hydrolight culture, index of biosystemic determinism.

В процессе своей жизнедеятельности корневая система растения постоянно выделяет в ризосферу различные органические соединения – экзометаболиты [1]. Интенсивность экссудации зависит от вида растения, фазы его развития и воздействия внешних биотических и/или абиотических стресс-факторов. Если в начальный период роста (10...20 дней) выход корневых выделений может составлять только 7...9 % от надземной биомассы растения, то за весь период вегетации он достигает 27...40 % от общего фотосинтетически фиксированного углерода и 15 % азота растений.

Обычно корневые экссудаты подразделяют на два класса: экзометаболиты с высокой молекулярной массой, которые содержат полисахариды и белки, и низкомолекулярные выделения. К основным классам низкомолекулярных экзометаболитов относят сахара, аминокислоты, органические кислоты, а также ароматические и фенольные соединения. Их поток в основном локализуется в меристематической верхушке корня (апексе), где отсутствие дифференцировки клеток способствует наилучшей диффузии экзометаболитов в ризосферу.

Известно, что существует тесная связь между корневыми экссудатами и микробным разнообразием [2, 3]. Сахара и органические кислоты служат конститутивными составляющими, которые постоянно присутствуют в ризосфере, потребляются микроорганизмами и служат детерминантами, влияющими на активность и смену микробных сукцессий в почве. Результаты недавних исследований свидетельствуют [4], что на основе запрограммированной динамической последовательности выделения корневых экссудатов *Avena barbata* определенного биохимического состава, в отсутствие эффектов почвенного матрикса, можно синхронизировать и прогнозировать последовательность сборки ризосферного генома.

Корневая экскреция способна улучшать минеральное питание растений [5] посредством подкисления ризосферы и усиления транслокации хелатных ионов микроэлементов из субстрата [6, 7, 8]. В промышленно развитых районах и на прилегающих к ним сельскохозяйственных территориях миграция этих микроэлементов может сопровождаться постепенным накоплением в культурах в высоких концентрациях. В таких случаях они начинают воздействовать на растения уже как тяжелые металлы (ТМ). В последние годы особое внимание уделяется избыточному накоплению кадмия (Cd^{2+}), как типичному их представителю первого класса опасности [9, 10]. Кроме того, к таким микроэлементам относится кобальт (Co^{2+}). По степени токсичности для почвы и растений этот поллютант принадлежит второму классу опасности [11]. Чаще всего загрязнение почв ТМ носит полиметаллический характер [12]. Механизмы совместного действия нескольких видов ТМ на растения еще недостаточно хорошо изучены, но исследования в этом направлении продолжаются [13, 14]. Известно, что под воздействием ТМ растения усиливают синтез экзометаболитов корнями [15], что направлено на повышение иммобилизации поллютантов на агрегатных частицах почвенных коллоидов и образование трудно

усвояемых для растений комплексов. Однако отмечен и обратный эффект: выделение экссудатов может повышать растворимость и биодоступность ТМ в виде хелатов [16].

Среди сельскохозяйственных растений, бобовые культуры менее устойчивы к токсичным ионам ТМ, чем злаки. Сильное угнетение продукции биомассы у представителей семейства *Fabaceae* наблюдается даже в присутствии низких концентраций ионов Cd^{2+} . Показано, что растения гороха не переносят концентрации Cd^{2+} в среде выше 5 мкМ [17]. Однако эти культуры, обладая высоким симбиотическим потенциалом, способны образовывать множественные эффективные растительно-микробные ассоциации с разнообразным спектром полезных микроорганизмов, обитающих в почве, в частности, с клубеньковыми бактериями, грибами арбускулярной микоризы, а также ассоциативными рост-стимулирующими ризобактериями (plant growth-promoting rhizobacteria – PGPR), повышающими адаптационную лабильность организма их растения-хозяина – макросимбионта, путем улучшения его способности к усвоению труднодоступных форм минеральных элементов из субстрата [18].

Изучение влияния ТМ на процессы изменения в выделительной функции корневой симбиосистемы зернобобовых культур представляет высокий интерес, поскольку косвенно, они могут отражать изменения в биохимических процессах, происходящих внутри живого организма. Новизна подобных исследований заключается в том, что такой подход позволит уже на раннем этапе вегетации растений проводить генотипический скрининг исходного материала по устойчивости к воздействию металл-индуцированного стресса, не прибегая к разрушению живых тканей, при выращивании культур в условиях селекционного фитотрона (синерготрона). Кроме того, этот критерий позволит математически прогнозировать, как вариативность выхода фракций корневых экссудатов у разных растительных синузид может повлиять на запланированные мероприятия по биоремедиации (фитосанации) загрязненной территории с использованием микробных интродуцентов.

Цель исследования – изучение влияния моно- и биметаллического типа загрязнения питательного субстрата на изменение уровня фрактальной консолидации биосистемных компонентов профиля корневых экссудатов у контрастных по степени толерантности генотипов гороха.

Методика. Растительными объектами для исследования послужили Cd -чувствительный генотип гороха посевого сорта – SGE, а также уникальный Cd -устойчивый мутант *SGECDt*, созданный в результате мутагенеза этилметансульфонатом лабораторной линии SGE. Механизм устойчивости мутанта к Cd не связан с биосинтезом глутатиона и фитохелатинов. Биохимические исследования показали, что в присутствии токсичных ионов Cd (4 мкМ) мутант *SGECDt* проявлял дефицит содержания небелковых тиолов и свободного пролина, а также низкую активность каталазы и пероксидазы, по сравнению с растениями дикой линии [19]. Мутант также демонстрировал устойчивость к накоплению

токсических концентраций кобальта. Ключевая роль в толерантности принадлежала корням, поставляющим питательные вещества в надземные органы для поддержания гомеостаза и адаптации растений к токсическому действию ионов. Для сравнения в опыт также был включен коммерческий высокоурожайный сорт Софья, чувствительный к воздействию ТМ. На сегодня, это второй по распространенности в РФ сорт селекционного гороха с высоким содержанием белка (20,2...24,8 %) после сорта Фараон.

Как правило, чаще всего влияние ТМ на растительную экссудацию высших растений изучают в упрощенных гидропонных модельных системах, поскольку создание локальных стерильных условий в почве весьма трудоемкая задача [20]. Хотя результаты подобных исследований далеки от естественных, природных, гидропонные методы, наряду с *in vitro*, пригодны для первичного скрининга общих метаболических реакций устойчивости растений к различным загрязнителям [21]. Кроме того, благодаря отсутствию адсорбционного процесса, осуществляемого коллоидными частицами и агрегатами почвы, реакции обмена веществ протекают в таких условиях гораздо быстрее, по типу окисления/восстановления, что позволяет точнее проводить оценку корневых выделений. Поэтому свой эксперимент мы проводили в полипропиленовых гнотобиотических системах OS140BOX (Duchefa, Нидерланды), содержащих стерильный питательный раствор, приготовленный на основе дистиллированной воды. Состав питательного раствора был следующий: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ (100 μM); $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ (600 μM); $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (300 μM); $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (100 μM); KCl (300 μM); KNO_3 (1000 μM); $\text{FeC}_2\text{H}_4\text{O}_6 \times 2.5\text{H}_2\text{O}$ (10 μM); H_3BO_3 (2 μM); MnSO_4 (4 μM); ZnSO_4 (3 μM); NaCl (6 μM); Na_2MoO_4 (0,06 μM); CuCl_2 (0,06 μM); NiCl_2 (0,06 μM); KJ (0,06 μM); KBr (0,06 μM); pH 6,5.

ТМ вводили в среду в виде водных растворов солей: CdCl_2 в концентрации 4 μM и/или CoCl_2 в концентрации 40 μM . Выбор концентраций исследуемых ТМ определялся по результатам предыдущих работ авторов. Анион солей был выбран также не случайно, поскольку на примере кадмия известно, что засоление хлоридами усиливает поглощение токсиканта растениями из почвенного раствора даже при очень низком его содержании. Параллельно изучали варианты с совместным внесением ТМ в питательный раствор.

Перед посевом семена скарифицировали и стерилизовали 0,5 %-ным гипохлоридом натрия в течение 10 мин. Затем их тщательно промывали в дистиллированной воде и проращивали на смоченной фильтровальной бумаге (Whatman #1) в темном термостате при 25 °С в течение 3 суток. Проклюнувшиеся семена в количестве 10 шт. высаживали на помещенные в сосуд стерильные сетки из нержавеющей стали, выполненные в виде П-образных мостиков. Эксперимент проводили в пятикратной аналитической повторности для каждого варианта.

Растения культивировали в климатической камере при светодиодном освещении в течение 10 дней до сбора экссудата. В качестве единственного источника инсоляции выступала фитопанель полного (Full) спектра SpecLED (Украина) на 120 Вт ($t = 26$ °С, $\phi = 80$ %; фотопериодизм: 16/8 ч; $R_a = 98$; PPFD (ФАР) = 375,0/мкмоль·м⁻²·с⁻¹; 25000 Лк; ФАР = 109,1 Вт/м²). Световые показатели измеряли люксметром (Voltcraft LX-1108, Германия) и спектрофотометром (OceanOptics STS-VIS, США). Перевод люксов в микромоли осуществляли по формуле для белого света [22].

За трое суток до окончания опыта сосуды проверяли на стерильность путем посева жидкости из сосуда в ламинарном боксе на питательной среде LB. После съема пять собранных растворов с экссудатами из каждого варианта фильтровали через мембранный фильтр диаметром 0,45 мкм (смесь эфиров целлюлозы, MF-MilliporeSigma®, США) и концентрировали в роторном вакуумном испарителе на водяной бане Heidolph Hei-VAP Precision (Heidolph Instruments GmbH & Co KG, Германия) до объема 10 мл. Рабочее давление составляло 69 мбар, скорость вращения колбы ...-160 об/мин, температура бани 45 °С. На следующем этапе концентраты пропускали через ионообменную смолу DOWEX 50WX8 фракции 100–200 (Sigma-Aldrich, Co., США) для разделения на две группы компонентов: 1) органические кислоты и сахара, 2) аминокислоты. Полученные фракции упаривали досуха в вакууме и растворяли в 1 мл воды Milli-Q. Такие образцы для последующего биохимического анализа хранили в морозильной камере при температуре ниже -19 °С.

Количественный состав сахаров, органических кислот и аминокислот в 1 мл свежеприготовленной пробы оценивали с использованием системы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) класса H (Waters ACQUITY UPLC, США). Сахара определяли рефрактометрически на детекторе 2414 (Waters, США), входящем в состав ВЭЖХ системы. Анализ проводили на колонке SUPELCOSIL LC-NH2 (5 мкм, 4,6 × 250 мм) (Supelco Gland, Швейцария) в смеси буфера с использованием 75 % ацетонитрила, при скорости потока 1 мл/мин и температуре 31 °С. Органические кислоты разделяли в 10 мМ ортофосфорной кислоте на колонке Waters ACQUITY CSH C18 (1,7 мкм, 2,1 × 75 мм) (Waters, США) при скорости потока 0,1 мл/мин и температуре колонки 24 °С. Детектирование проводили на фотодиодной матрице Acquity UPLC УФ (eLPSA) при длине волны 220 нм. Протеиногенные аминокислоты (кроме L-триптофана) анализировали методом Waters AccQ-Tag по рабочему протоколу с использованием флуоресцентного детектора (Waters, США). Количество L-триптофана определяли без дериватизации, путем разделения аминокислот на колонке Waters ACQUITY UPLC VEN RP18 Shield (1,7 мкм, 2,1 × 50 мм) (Waters, США) в смеси 0,1 % муравьиной кислоты (буфер А) и 75 % ацетонитрила с 0,1 % добавкой муравьиной кислоты (буфер Б). Градиент значений разбавления буфера Б при подаче в колонку варьировал от 1 до 18 % в течение первых 5 минут, затем возрастал до 80 % на 2 минуты при промывке колонки, и вновь снижался до уровня 1 % при кондиционировании в течение последних 3 минут анализа образца. Скорость потока составляла 0,3 мл/мин. Детектирование L-триптофана происходило с использованием флуоресцентного детектора при длине волн $\lambda = 280$ нм и $\lambda = 350$ нм. Стандартами для идентификации всех компонентов корневых экссудатов служили свежеприготовленные смеси сахаров, органических кислот и аминокислот.

Для определения аккумуляции подвижных ионов Cd^{2+} и Co^{2+} в различных частях растения (надземных и подземных органах) полученную биомассу высушивали, взвешивали и измельчали до порошкообразного состояния в агатовой ступке. Далее ее помещали во фторопластовый сосуд для разложения, добавляли 2,0 мл 70 %-ной концентрированной азотной кислоты (HNO_3), 2,0 мл 30 %-ного пероксида водорода (H_2O_2) и проводили мокрое озоление в системе разложения проб Digiblock ED36S (LabTech, Италия) в течение 4 ч при температуре 170 °С. Азотную кислоту, используемую

для разложения, предварительно очищали в системе очистки кислот subClean. Разложение и последующие операции проводили для двух одинаковых навесок анализируемой пробы. Одновременно готовили холостой раствор с использованием тех же самых реактивов. Полученные после терморазложения суспензии сливали в мерные полиэтиленовые сосуды на 50 мл, доводили до метки 25 мл дистиллированной водой и оставляли на сутки для лучшего осаждения. Содержание ТМ определяли в верхнем отобранном супернатанте методом атомно-эмиссионной спектромерии с индуктивно-связанной плазмой на ICPE-9000 (Shimadzu, Япония) и атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией на AA-7000 (Shimadzu, Япония). По каждому элементу строили градуировочную характеристику, коэффициент корреляции в каждом случае составлял $R \geq 0.998$. Качество химико-аналитических измерений, проведенных в лаборатории, подтверждено анализом стандартной (контрольной) пробы (Стандартный образец состава листа березы ЛБ-1 (ГСО 8923-2007)).

Экспериментальные данные подвергли статистическому анализу с использованием программы R (версия 4.1.0). Изменение содержания органических кислот, сахаров и аминокислот в корневом экссудате с различным типом загрязнения ТМ анализировали методом дисперсионного анализа, основанного на преобразовании Бокса-Кокса. Критерий Шапиро-Уилка использовали для оценки нормальности распределения параметров количественных переменных. Взаимосвязь между разными генотипами по сухой биомассе оценивали с использованием методики ANOVA и критерия Тьюки с поправкой на множественные сравнения (поправка Бонферрони). Различия считали достоверными и признавали наличие связи между показателями на уровне вероятности, не превышающем 0,05.

Для визуализации данных и выявления сходства профилей количественного состава корневых экзометаболитов у изучаемых генотипов гороха был проведен кластерный анализ с построением тепловой карты на основе матрицы корреляционных расстояний.

Индексы биосистемной детерминированности (I_F) экссудатов рассчитывали с помощью оригинальной авторской программы для ЭВМ. В качестве числовой группы для расчёта была выбрана фракция аминокислот, как наиболее многокомпонентная при детектировании на ВЭЖХ.

Фрактальная модель (*Fr1*) представляет собой последовательность чисел, убывающих по степенному закону

$$Fr1: 2^b, 2^b \cdot q^{-1}, 2^b \cdot q^{-2}, 2^b \cdot q^{-3}, \dots, 2^b \cdot q^{-N}, \quad (1)$$

где $q = 2^{(1-1/N)} \dots 2^{(1+1/N)}$; $b = -1 \dots 0$; $N = 3 \dots \infty$

В логарифмической форме фрактальная модель (*Fr2*) представляется арифметическим рядом чисел:

$$Fr2: b, -\log_2(q) + b, -2 \cdot \log_2(q) + b, -3 \cdot \log_2(q) + b, \dots, -N \cdot \log_2(q) + b, \quad (2)$$

где $\log_2(q) = 1 - 1/N \dots 1 + 1/N$; $b = -1 \dots 0$; $N = 3 \dots \infty$

Каждая числовая позиция фрактальных моделей *Fr1* и *Fr2* задает не абсолютную величину компонентов в биосистеме, а их статус по отношению к остальным. Это подчеркивает то, что при любом суммарном количестве компонентов в биосистеме, их процентные соотношения остаются неизменными.

Для расчета I_F исходные значения корневых экссудатов аминокислот преобразуются в молярные массы (г/моль) и аппроксимируются в виде числовой линейной зависимости:

$$Fr3: X_j(Y_j) = \frac{1}{N - I_F} \cdot \sum_{j=1}^{j=N} X_j Y_j - X_{CP} Y_{CP} \approx \frac{1}{N - I_F} \cdot \sum_{j=2}^{j=N} Y_j \quad (3)$$

a_m – коэффициент линейной аппроксимации расположения чисел в системном ряду убывания значений, изображающих члены ряда фрактальной модели.

Далее используя среднеквадратичное отклонение реальных количеств аминокислот от фрактальной модели *Fr3*, можно вычислить I_F экссудации аминокислот в ризосферу растений, исходя из следующей формулы:

$$I_F = \left(1 - \sqrt{\frac{1}{N-1} \cdot \sum_{j=2}^{j=N} d_j^2} \right) \cdot R, \quad (3)$$

где

$$d_j = X_j - a_m \cdot (Y_j - Y_{CP}) - X_{CP};$$

$$X_{CP} = \frac{1}{N} \cdot \sum_{j=1}^{j=N} X_j;$$

$$Y_{CP} = \frac{1}{N} \cdot \sum_{j=1}^{j=N} Y_j;$$

$$Y_j = \log_2(p_j/p_{max});$$

$$X_j = \text{дробная часть } \log_2(p_j/p_{max});$$

p_j, p_{max} – значение аминокислоты с номером (j) и аминокислоты, присутствующей в группе в максимальном количественном значении; a_{min} – коэффициент линейной аппроксимации фрактальной модели *Fr3*. N – общее число аминокислот. $R = N_M/N$ – корректирующий коэффициент. N_M – минимальное число позиций в ряду чисел фрактальной модели, полностью отображающих реальное соотношение функциональных групп аминокислот.

I_F может меняться в диапазоне от 0,0 до 1,0 со следующей градацией: 0,7...1,0 – высокий уровень; 0,3...0,7 – средний уровень; 0,0...0,3 – низкий уровень биоконсолидации компонентов в экссудатах. Равенство I_F нулю означает, что растение становится целиком зависимо от нестабильности внешних условий в конкретной почвенной среде, а генетический контроль за

Табл. 1. Сухая биомасса гороха посевного, выращенного на жидком питательном субстрате, обогащенном токсичными концентрациями тяжелых металлов, мг/растение *

Вариант	Побег	Корень	Целое растение
SGE	57,5 ± 2,7 ^a	29,0 ± 2,0 ^a	86,5 ± 4,3 ^a
SGE + Cd	27,9 ± 1,9 ^b	9,8 ± 0,6 ^b	37,7 ± 2,2 ^b
SGE + Co	26,7 ± 2,7 ^c	9,5 ± 0,5 ^c	36,2 ± 2,9 ^c
SGE + Cd + Co	31,3 ± 2,1 ^d	8,5 ± 0,4 ^d	39,8 ± 2,0 ^d
SGECDt	52,0 ± 1,4 ^a	21,3 ± 0,8 ^a	73,3 ± 1,9 ^a
SGECDt + Cd	35,5 ± 2,1 ^b	16,6 ± 1,2 ^b	52,1 ± 3,0 ^b
SGECDt + Co	45,0 ± 2,8 ^{ab}	11,2 ± 0,6 ^c	56,2 ± 2,8 ^c
SGECDt + Cd + Co	44,0 ± 2,0 ^{ac}	10,7 ± 0,6 ^d	54,7 ± 2,0 ^d
Софья	43,7 ± 2,7 ^a	36,8 ± 1,8 ^a	80,5 ± 3,2 ^a
Софья + Cd	30,6 ± 1,0 ^b	26,2 ± 2,8 ^b	56,8 ± 2,6 ^b
Софья + Co	13,3 ± 1,0 ^c	13,3 ± 0,9 ^c	26,7 ± 1,8 ^c
Софья + Cd + Co	16,0 ± 1,4 ^d	9,2 ± 0,6 ^d	25,2 ± 1,7 ^d

*указаны средние значения ± ошибки средних; a, b, c, d – уровень значений, значительно различающихся между собой ($p \leq 0,05$).

Табл. 2. Содержание токсичных концентраций ТМ в побегах и корнях растений на 10 сутки после посадки, мкг·г⁻¹ сухой биомассы*

Вариант	Побег			Корень		
	SGE	SGECDt	Софья	SGE	SGECDt	Софья
Cd						
4 мМ Cd	58,3±2,4 ^a	172,7±6,8 ^b	55,3±3,8 ^{ab}	348,3±11,7 ^a	865,3±22,7 ^b	543,3±6,0 ^c
4 мМ Cd + 40 мМ Co	76,0±5,2 ^a	204,2±6,1 ^b	67,6±3,8 ^{ab}	422,5±2,2 ^a	1273,1±29,2 ^b	560,8±13,8 ^c
Co						
40 мМ Co	246,3±6,8	258,7±18,9	208,3±14,2	1254,3±96,8	1379,1±89,0	1229,8±87,5
4 мМ Cd + 40 мМ Co	182,1±22,6	165,9±19,0	183,5±19,2	953,9±73,6	1217,0±24,4	1038,8±73,9

*указаны средние значения ± ошибки средних; a, b, c – уровень значений, значительно различающихся между собой (p < 0,05). Для вариантов кобальта различия не достоверны.

биохимическими процессами минимален. При I_r равном единице контроль за метаболизмом растения со стороны генома достигает максимального уровня, а влияние внешних факторов минимизировано. Это обеспечивает устойчивый гомеостаз и адаптационную лабильность растений. Однако их урожайность не будет превышать средне статистических значений.

Результаты и обсуждение. Анализ данных по сухой биомассе корней и побегов показал, что вне зависимости от характера загрязнения внесение солей ТМ приводило к ингибированию роста обоих органов (табл. 1).

Как и ожидалось, угнетение общей биомассы мутантного генотипа SGECDt проявилось в меньшей степени, чем у двух других линий. Кроме того, у всех генотипов зафиксировано отсутствие проявления аддитивного негативного воздействия на развитие растений на раннем этапе роста при совместном (биметаллическом) стрессе, по сравнению с моноэлементным. Это может быть связано с тем, что суммарное влияние ТМ проходит независимо в два этапа: на раннем действует один, более подвижный токсикант, на последующем этапе онтогенеза, когда устанавливается динамическое равновесие системы, проявляется влияние второго. Однако такое предположение нуждается в апробации на практике при постановке более длительного эксперимента, что пока

ограничено объемом и высотой стерильных сосудов Duchefa. Тем не менее, в подтверждение этой гипотезы, можно выделить тот факт, что при совместном внесении ТМ, влияние Co²⁺ приводило к увеличению накопления Cd²⁺, а воздействие кадмия нивелировало накопление кобальта в растительной биомассе (табл. 2).

Похуже результаты уже отмечали ранее [23], когда после совместного введения кадмия и кобальта в почвенный раствор, ионы Co увеличивали концентрацию двухвалентного Cd в нем в 4...6 раз, а влияние Cd уменьшало содержание Co в среде не более чем в 1,5 раза.

Несмотря на то, что растения гороха относятся к культурам с С-3 типом метаболизма, соотношение сахаров к органическим кислотам у которых составляет 76:23, в контроле суммарно среди компонентного состава корневых выделений, у всех генотипов преобладала фракция органических кислот (рис. 1)

Достоверные различия в изменении суммарной эксудации органических кислот отмечены у генотипов Софья и SGECDt, по сравнению с линией SGE: в контроле в среднем в 2,0 раза (p < 0,05), в варианте с кадмием – в 2,6 раза (p < 0,05), с кобальтом – в 1,4 раза, с биеlementным загрязнением – в 1,6 раза (p < 0,05). Различия в суммарном выходе сахаров у SGECDt, по сравнению с генотипами SGE и Софья, в среднем по варианту с

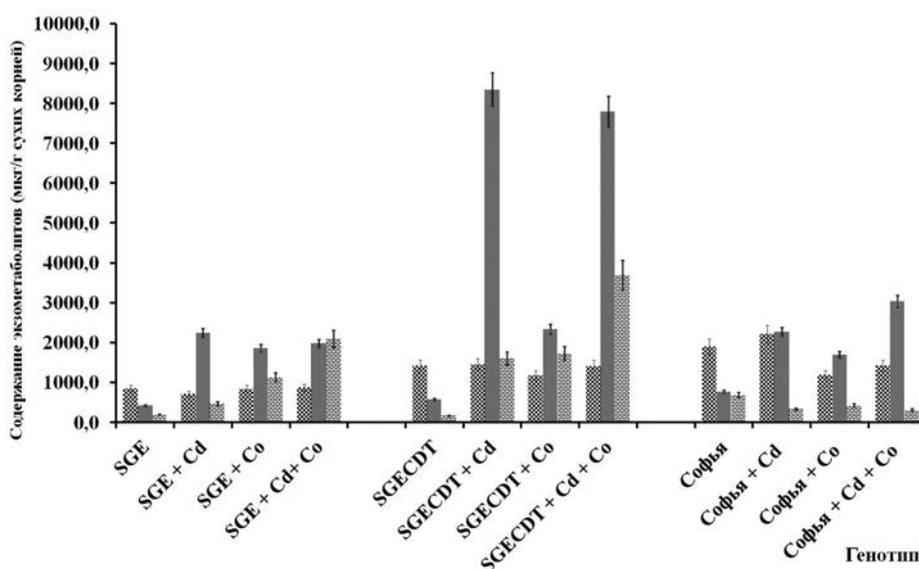


Рис. 1. Усредненные показатели фракционного состава корневых выделений у разных генотипов *Pisum sativum* выращенных на субстрате, обогащенном ТМ. Планки (бары) на столбцах обозначают ошибки средних: ▨ – органические кислоты; ■ – сахара; ▩ – аминокислоты.

кадмием были выше в 3,7 раза, с кобальтом – в 1,3 раза ($p < 0,05$), с Cd + Co – в 3,3 раза ($p < 0,05$). По суммарному выходу аминокислот мутант SGECdDt превосходил SGE в варианте с кадмием в 3,4 раза ($p < 0,05$), с кобальтом – в 1,5 раза ($p < 0,05$), с обоими ТМ – в 1,8 раза ($p < 0,05$), а сорт София – в 4,9 ($p < 0,01$), 4,1 ($p < 0,01$) и 12,0 раза ($p < 0,01$), соответственно. Загрязнение питательного раствора ТМ вызывало увеличение суммарного выхода сахаров и аминокислот у генотипов SGE и SGECdDt ($p < 0,05$). Особенно отчетливо, в сравнении с контролем, это проявлялось у мутанта при биметаллическом стрессе. У сорта София эффект от воздействия ТМ отмечали только на сахарах ($p < 0,05$). Статистически значимой разницы в общем выходе органических кислот между тремя генотипами не обнаружено.

Композиционный состав сахаров у всех сортов был одинаковым. Основной компонент углеводной фракции у генотипов София и SGE был представлен моносахаридом – фруктозой, доля выхода которой в среднем по вариантам опыта составила 84,7 %. SGECdDt характеризовался средним выходом фруктозы (22,8 %), в то время как на долю другого простого сахара – глюкозы приходилось в среднем 70,0 % (табл. 3). Воздействие двух металлов по отдельности или в сочетании привело к резкому снижению количества выхода фруктозы у мутанта (с 47,0 % в контроле в среднем до 14,7 % при воздействии ТМ) и повышению концентрации глюкозы (с 26,1 % до 84,3 %). Глюкоза – промежуточное звено в процессе синтеза органических кислот, которые, присоединив аминокгруппу, превращаются в аминокислоты, предшественники фитогормонов-ауксинов. Это также согласуется с повышением общей доли уксусной кислоты в суммарном объеме органических кислот при воздействии ТМ с 3,4 % до 12,0 %, и восстановлением/снижением доли пировиноградной кислоты с 11,0 % до 4,2 %. Указанные соединения служат связующими

компонентами в биосинтезе гетероауксина (индолил-3-уксусной кислоты или ИУК), у генотипа SGECdDt. О повышении биосинтеза ИУК в растительных тканях также косвенно свидетельствует увеличение доли янтарной кислоты (с 8,9 % до 36,5 %), которая по своим физиологическим и биохимическим свойствам, активирует механизмы неспецифического ответа растений на стресс и служит миметиком салициловой кислоты. Последняя регуляторная сигнальная молекула также отнесена к группе фитогормонов. На основании приведенных данных можно судить о сопутствующем изменении в фитогормональном балансе мутантной линии, который способствует лучшему развитию растений в условиях металл-индуцированного стресса. Увеличение синтеза глюкозы у SGECdDt также может быть связано с тем, что этот фотоассимилянт менее необходим растению при наборе биомассы в условиях стресса, и, скорее всего, играет роль мобилизационного резерва для дальнейшей регуляции метаболических процессов. Так, в работе [24] результаты метаболомного профилирования на примере другого стресса (засухи) показали, что в растениях происходит накопление различных сахаров, в частности глюкозы и фруктозы, повышающих осмотический потенциал растительных клеток. В работе Киффера с соавт. [25], при выращивании молодых растений тополя (*Populus tremula* L.), в гидропонной культуре с добавлением токсичной концентрации кадмия в количестве 20 мкмоль, показано увеличение содержания углеводов в листьях растений в течение уже первых 14 суток. В работе Хиа с соавторами [26], связанной со сравнительным изучением двух генотипов *Synodon dactylon* (L.) Pers., отличающихся контрастной толерантностью к ионам кадмия, методом хромато-масс-спектрометрии также обнаружено повышение сахаров у обоих генотипов. Причем отличия были более ярко выражены у Cd-чувствительного генотипа WB144, чем

Табл. 3. Содержание сахаров в экзометаболитах изученных генотипов гороха, выращенных в гнотобиотических условиях в присутствии токсической концентрации ТМ, мкг/г сухих корней

Сахар	Вариант			
	контроль	CdCl ₂	CoCl ₂	CdCl ₂ + CoCl ₂
София				
Глюкоза	2,3±1,5	311,9±64,1	195,7±47,7	362,4±49,8
Фруктоза	688,5±60,6	1810,4±177,1	1441,8±134,3	2430,0±142,7
Рибоза	76,3±30,7	148,0±58,3	55,6±21,7	241,8±14,2
Σ	767,1±33,5	2270,3±194,6	1693,1±195,9	3034,2±142,8
Среднее	255,7±11,2	756,8±64,9	564,4±65,3	1011,4±47,6
SGE				
Глюкоза	45,1±3,7	208,6±22,8	240,8±5,5	217,8±5,3
Фруктоза	337,6±109,4	2004,5±344,7	1598,0±143,3	1732,0±67,8
Рибоза	40,1±1,7	32,6±7,2	19,9±2,2	27,9±6,0
Σ	422,8±109,3	2245,7±368,7	1858,7±140,5	1977,7±67,0
Среднее	140,9±36,4	748,6±122,9	619,6±46,8	659,2±22,3
SGECdDt				
Глюкоза	149,8±12,0	7800,7 ± 217,3	1616,4±168,5	7036,6±1028,1
Фруктоза	269,6±17,3	498,7±77,4	679,2±101,3	711,0±81,1
Рибоза	154,8±29,4	51,7±7,7	43,2±3,3	46,4±10,8
Σ	574,2±25,5	8351,1±197,4	2338,8±229,7	7794,0±1109,0
Среднее	191,4±8,5	2783,7±65,8	779,6±76,6	2598,0±369,7

у Cd-толерантного генотипа WB242. По аналогии эти результаты можно сравнить с нашими наблюдениями. Генотип SGECDt, как и WB242, рос лучше, чем генотип SGE, аналог WB144. Известно, что глюкоза играет важную роль не только в физиологических процессах развития растений, но и в устойчивости их к различным абиотическим стрессам [27]. Можно предположить, что благодаря увеличению выхода сахаров, у мутанта также активизируется фотосинтетическая активность.

Среди органических кислот в зависимости от сорта преобладали уксусная, молочная, янтарная, пировиноградная и пропионовая кислоты (табл. 4).

Как было отмечено ранее, у мутанта SGECDt воздействие ТМ приводило к увеличению доли выделения

янтарной и уксусной кислот в общей сумме органических кислот, а также снижение доли пировиноградной кислоты, по сравнению с контролем. У растений сорта Софья под влиянием Cd²⁺ доля лимонной кислоты в общей сумме выделенных органических кислот возрастала с 0,02 % до 10,9 %, щавелевой кислоты – с 0,2 % до 3,9 %.

Органические кислоты – наиболее известные низкомолекулярные комплексобразующие соединения, имеющими отрицательный заряд, у различных культур. Так, янтарная кислота, наряду с яблочной и уксусной, способна эффективно связывать ионы ТМ в ризосфере и повышать устойчивость растений к стрессу [28, 29]. Повышенная секреция органических кислот может из-

Табл. 4. Содержание органических кислот в экзометаболитах изученных генотипов гороха, выращенных в гнотобиотических условиях в присутствии токсической концентрации ТМ, мкг/г сухих корней

Органическая кислота	Вариант			
	контроль	CdCl ₂	CoCl ₂	CdCl ₂ + CoCl ₂
Софья				
Пироглутаминовая	202,7±25,4	173,1±73,3	52,0±27,3	77,4±32,3
Фумаровая	24,6±3,4	29,0±11,7	8,0±1,7	9,3±1,8
Уксусная	474,2±21,4	595,6±80,6	329,5±1,7	375,7±22,5
Молочная	563,0±97,7	569,5±194,5	216,2±96,3	409,5±34,5
Янтарный	85,2±31,2	31,9±12,1	15,9±3,4	5,6±2,9
t-аконитовая	18,0±3,2	31,3±5,3	6,3±1,9	9,1±2,3
Молочная	93,2±28,1	95,8±39,1	24,5±11,4	66,1±26,1
Пировиноградная	434,0±54,2	357,2±88,3	451,9±12,6	385,1±36,3
Лимонная	0,4±0,1	241,9±69,2	52,1±12,0	62,6±0,9
Щавелевая	3,8±1,0	85,6±16,8	28,2±3,8	19,9±4,5
Пропионовая	н/о*	н/о	н/о	н/о
Σ	1898,7±77,5	2210,9±65,9	1184,6±154,4	1420,3±113,0
Среднее	211,0±8,6	221,1±6,6	118,5±15,4	142,0±11,3
SGE				
Пироглутаминовая	141,0±11,6	114,8±11,7	120,0±11,0	113±19,3
Фумаровая	н/о	н/о	н/о	н/о
Уксусная	42,9±0,6	70,1±2,6	32,3±2,8	15,8±2,3
Молочная	161,8±9,9	180,0±24,9	150,0±17,9	173,0±25,7
Янтарный	14,7±2,3	34,6±6,7	20,2±3,2	17,3±1,0
t-аконитовая	0,3±0,1	0,2±0,1	0,3±0,1	0,6±0,2
Молочная	н/о	н/о	н/о	н/о
Пировиноградная	35,8±12,6	25,0±4,5	51,0±3,9	65,7±9,4
Лимонная	н/о	н/о	н/о	н/о
Щавелевая	н/о	н/о	н/о	н/о
Пропионовая	450,0±27,6	289,0±40,0	468,0±35,3	487,0±33,5
Σ	846,5±19,0	713,7±59,8	841,8±46,5	872,0±24,5
Среднее	120,9±2,7	102,0±9,3	120,3±9,5	124,6±6,7
SGECDt				
Пироглутаминовая	298,6±56,2	130,8±14,4	29,4±13,0	25,6±4,8
Фумаровая	15,0±2,1	2,4±0,4	1,2±0,6	0,2±0,1
Уксусная	48,1±4,7	81,8±2,2	96,7±4,6	314,4±10,5
Молочная	206,8±46,6	177,6±23,1	77,4±15,5	37,9±8,8
Янтарный	125,6±13,2	502,6±24,0	449,6±13,2	520,2±39,8
t-аконитовая	10,0±0,9	1,0±0,2	0,6±0,1	0,8±0,1
Молочная	н/о	н/о	н/о	н/о
Пировиноградная	155,4±7,2	71,6±5,9	62,3±3,4	32,9±2,0
Лимонная	н/о	н/о	н/о	н/о
Щавелевая	н/о	н/о	н/о	н/о
Пропионовая	557,4±16,4	484,9±36,3	465,0±14,2	483,8±33,7
Σ	1416,9±59,4	1452,7±39,2	1182,2±35,4	1415,7±33,4
Среднее	177,1±7,4	181,6±4,9	147,8±4,4	177,0±8,3

*н/о – не обнаружено

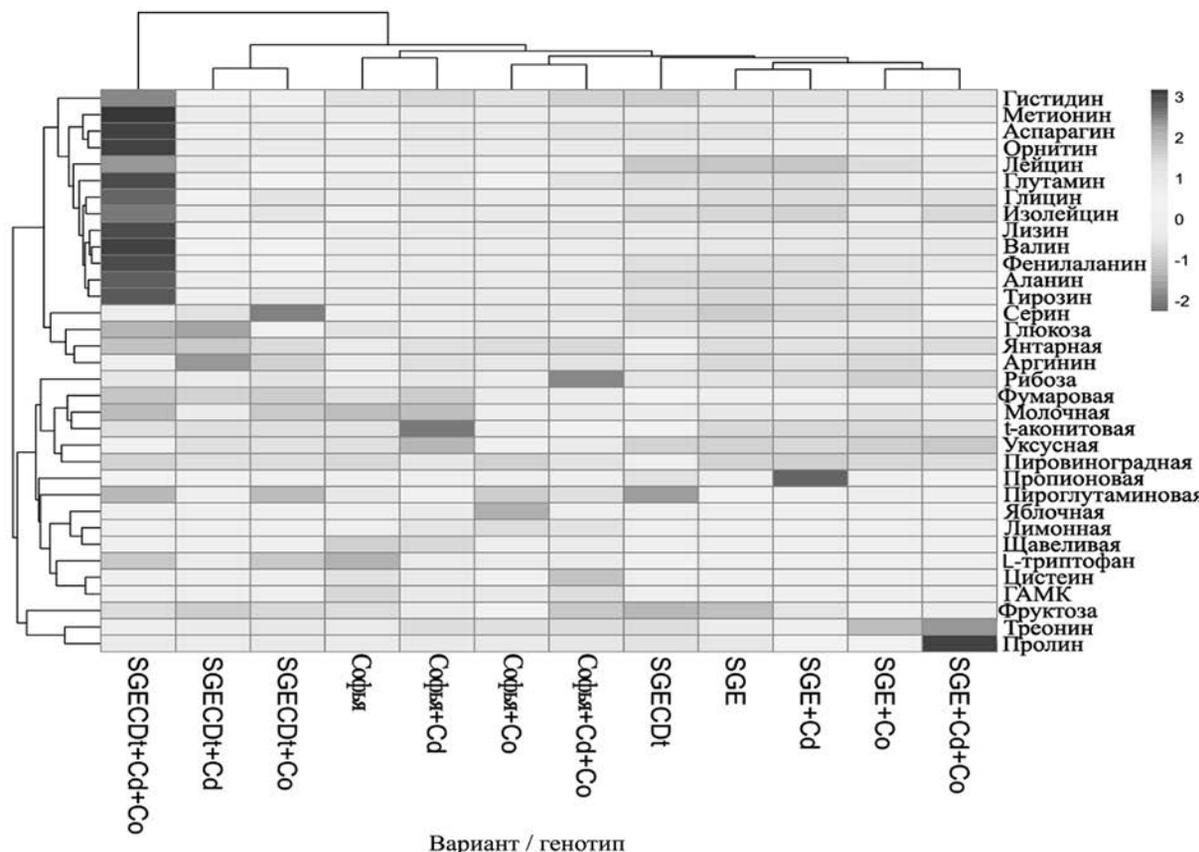


Рис. 2. Тепловая карта изменения корневых экссудатов у разных генотипов *Pisum sativum* при металл-индуцированном стрессе (темный цвет указывает на более высокую концентрацию каждого компонента, светлый – на более низкую).

менять уровень кислотности раствора, влияя на миграционный процесс (диффузию) и фитоэкстракцию ТМ в культуре. Увеличение выхода янтарной и уксусной кислот у мутанта SGECDt может быть одной из причин повышения аккумуляции кадмия в растительной биомассе.

Наименьшая по процентному выходу низкомолекулярных веществ, фракция аминокислот была представлена 20 протеиногенными аминокислотами (табл. 5). Биохимические тесты показали, что в процентном выражении, по отношению к контролю, воздействие ТМ в среднем в 3 раза увеличило выход аспарагина, в 6 раз – орнитина и в 14 раз – метионина. Известно, что последняя аминокислота участвует в адаптации растений к кадмиевому стрессу [30]. Среди экссудатов аминокислот мутанта SGECDt и дикой линии не удалось выявить цистеин и γ -аминомасляную кислоту. У сорта SGE также не был обнаружен L-триптофан, зато отмечен высокий выход пролина, как основной стрессовой аминокислоты.

Увеличение пула свободных аминокислот у мутанта SGECDt, вероятно, связано с отдельными аспектами детоксикации ТМ в тканях растений. Очевидно, что в равной степени это сопровождалось повышенным синтезом белков и других соединений в растении, в том числе фитогормонов. Этим можно объяснить более низкое ингибирование биомассы у мутанта и стимуляцию его роста, как механизма противодействия стрессу, связанного с эффектом разбавления токсиканта при нарастании биомассы растения. Кроме того, высокий уровень биодоступности накопления ТМ у мутанта

SGECDt – результат повышенной секреции аспарагиновой кислоты [28]. Напротив, снижение суммарного количества аминокислот у сорта Софья, вероятнее всего, обусловлено наибольшим уменьшением белковой биомассы при биметаллическом загрязнении среды, по сравнению с контролем.

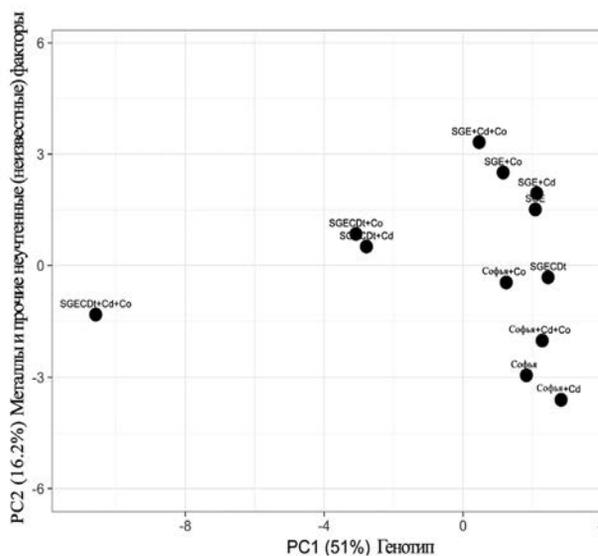


Рис. 3. Графическое представление данных анализа корневых экссудатов у различных генотипов *Pisum sativum* методом главных компонент.

Табл. 5. Содержание аминокислот (мкг/г сухих корней) в экзометаболитах изученных генотипов гороха, выращенных в гнотобиотических условиях в присутствии токсической концентрации ТМ*

Аминокислота	Вариант											
	Софья				SGE				SGECDt			
	контроль	CdCl ₂	CoCl ₂	CdCl ₂ + CoCl ₂	контроль	CdCl ₂	CoCl ₂	CdCl ₂ + CoCl ₂	контроль	CdCl ₂	CoCl ₂	CdCl ₂ + CoCl ₂
1	17,4±5,3	5,4±1,5	5,7±1,3	2,8±0,4	2,8±0,2	6,8±0,8	15,7±2,8	34,4±6,2	1,0±0,1	22,8±3,1	10,1±1,3	117,1±31,4
2	143,1±44,2	79,3±12,6	71,8±29,0	66,1±26,0	8,8±0,9	38,1±3,6	49,3±9,5	194,7±34,1	37,6±5,7	293,6±22,1	451,6±120,9	124,1±27,1
3	16,5±4,1	12,5±4,6	43,2±22,1	8,5±5,9	4,1±0,8	4,9±0,2	22,2±4,4	24,2±2,2	4,7±0,5	28,1±3,3	50,2±6,4	147,7±8,3
4	16,0±9,5	7,3±2,7	17,9±4,1	14,6±5,8	0,2±0,1	0,2±0,1	1,2±0,4	1,2±0,4	6,6±0,1	35,1±4,9	75,0±13,1	138,2±5,3
5	68,4±19,0	37,0±6,4	65,0±5,5	26,6±11,1	57,9±13,7	62,7±2,3	311,2±74,7	309,1±20,0	18,2±6,2	160,1±28,2	176,0±49,5	539,2±117,9
6	45,3±26,0	12,7±1,3	23,2±12,2	19,5±10,2	0,7±0,2	12,0±0,7	3,8±1,0	60,9±9,4	23,1±6,2	306,8±44,2	230,6±48,6	145,6±6,8
7	48,8±21,4	7,2±1,9	14,7±0,3	7,2±2,7	84,9±4,2	112,2±4,5	468,8±50,0	563,8±67,5	4,1±1,1	59,7±8,3	41,2±8,4	122,6±16,0
8	28,4±7,5	17,2±1,1	19,3±4,3	14,8±3,9	2,5±0,4	6,6±0,5	14,3±3,8	33,4±5,5	6,4±0,7	70,4±3,0	68,9±8,7	158,6±67,6
9	46,7±9,1	22,4±2,5	25,5±4,4	18,7±7,2	13,8±0,9	203,7±30,0	160,6±33,4	730,5±181,0	5,4±1,8	68,2±3,3	27,6±8,8	37,5±6,8
10	15,9±5,8	11,3±2,3	14,4±2,7	13,9±4,2	1,4±0,1	5,5±0,5	7,6±1,5	28,0±4,7	5,5±0,7	35,4±4,8	64,8±16,1	133,2±5,3
11	50,6±13,4	28,1±4,6	25,6±6,5	23,7±8,7	3,0±0,8	1,8±0,2	17,1±4,9	9,1±1,2	11,4±1,2	161,7±25,5	132,3±28,6	648,3±247,5
12	1,5±0,3	1,9±0,6	2,0±0,4	1,1±0,5	0,2±0,1	0,3±0,1	0,8±0,3	1,7±0,4	0,2±0,1	4,2±1,1	1,5±0,4	180,3±4,5
13	31,6±10,5	12,9±0,9	11,5±3,5	6,6±2,0	2,0±0,8	2,9±0,3	10,2±3,8	14,1±1,5	18,0±1,7	161,3±14,6	199,4±30,4	565,7±126,6
14	39,8±11,1	22,6±3,8	19,1±6,5	21,0±7,7	3,3±1,3	1,4±0,4	17,4±6,3	6,6±2,1	7,6±1,2	71,4±8,6	85,4±18,4	150,9±53,0
15	42,8±13,3	20,4±3,0	24,9±4,9	26,1±4,1	2,0±0,4	3,4±0,3	11,5±3,6	17,0±2,9	4,3±0,6	51,0±5,7	45,6±6,0	86,4±16,0
16	36,5±11,6	19,5±4,1	23,5±6,8	30,5±3,7	1,9±0,8	2,6±0,4	9,7±4,3	13,0±2,2	5,5±0,7	75,4±9,7	58,4±7,4	209,4±85,6
17	4,8±0,7	1,2±0,1	1,2±0,6	3,0±0,1	н/о	н/о	н/о	н/о	1,7±0,1	1,4±0,1	0,1±0,1	0,1±0,1
18	1,5±0,3	0,4±0,1	1,7±0,5	0,5±0,1	2,6 ± 0,6	11,1±1,0	14,6±4,6	56,5 ± 9,9	0,5±0,1	1,6±0,4	5,1±1,0	192,7±1,4
19	7,7±4,0	3,2±0,8	4,8±0,2	1,3±0,2	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
20	19,3±3,4	3,5±0,4	4,3±0,2	1,8±0,9	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
Σ	682,6±198,1	326,0±54,4	419,3±53,8	308,3±84,9	192,1±17,8	476,2±33,5	1136,0±108,6	2098,2±327,2	161,5±9,8	1608,2±98,6	1723,5±207,8	3697,8±674,7
Π	34,1±9,9	16,3±2,7	21,0±2,7	15,4±4,2	11,3±1,0	28,0±2,0	66,8±6,4	123,4±19,1	9,0±0,5	86,0±5,5	95,5±11,5	205,4±37,5

*н/о – не обнаружено; Π – среднее; 1 – Аспарагин; 2 – Серин; 3 – Глутамин; 4 – Глицин; 5 – Гистидин; 6 – Аргинин; 7 – Треонин; 8 – Аланин; 9 – Пролин; 10 – Тирозин; 11 – Валин; 12 – Метионин; 13 – Лизин; 14 – Изолейцин; 15 – Лейцин; 16 – Фенилаланин; 17 – L-триптофан; 18 – Орнитин; 19 – Цистеин; 20 – γ-аминоасляная кислота (ГАМК).

Анализ тепловой карты (рис. 2), построенной на основе матрицы корреляционных расстояний свидетельствует, что состав корневых экзометаболитов мутанта SGECDt образует при введении в питательную среду двух ТМ отдельный гомогенный кластер. У остальных генотипов по вариантам отмечено близкое сходство полученных данных.

Анализ главных компонент корневых экссудатов свидетельствует о значительном сдвиге координаты точки мутанта SGECDt в математическом пространстве. В

Табл. 6. Дисперсионный анализ экссудации низкомолекулярных веществ различных генотипов *Pisum sativum* при внесении в среду ТМ

Фактор	F	p
Сахара		
Генотип	1,184	0,323
ТМ	0,988	0,415
Генотип x ТМ	0,336	0,911
Органические кислоты		
Генотип	0,888	0,415
ТМ	0,263	0,852
Генотип x ТМ	0,222	0,969
Аминокислоты		
Генотип	11,897	< 0,001***
ТМ	9,352	< 0,001***
Генотип x ТМ	3,980	< 0,001***

***порог статистической значимости, ниже которого наблюдаемая разница между группами может считаться достоверной.

двумерной проекции, генотип играл более важную роль в распределении выхода корневых выделений растения, нежели внешнее воздействие поллютантов (рис. 3).

Результаты двухфакторного ANOVA-анализа и теста Tukey HSD при p < 0,05 показали наличие высоких

Табл. 7. Индексы биокооперации аминокислотного профиля корневых выделений различных генотипов *Pisum sativum* при внесении в среду ТМ

Вариант / генотип	I _F	r*
SGE	0,39±0,01	
SGE + Cd	0,34±0,01	0,49
SGE + Co	0,36±0,01	
SGE + Cd + Co	0,37±0,01	
SGECDt	0,31±0,01	
SGECDt + Cd	0,37±0,01	-0,38
SGECDt + Co	0,39±0,01	
SGECDt + Cd + Co	0,38±0,01	
Софья	0,29±0,01	
Софья + Cd	0,29±0,01	-0,53
Софья + Co	0,29±0,01	
Софья + Cd + Co	0,29±0,01	

*коэффициенты корреляции между индексом детерминированности экссудации аминокислот I_F и суммарной сухой массой растений по вариантам опыта.

статистически значимых ($p < 0,001$) различий в экскреции аминокислот корнями между вариантами (табл. 6). Наиболее отчетливо это проявилось при моно- или биметаллической интродукции токсикантов на мутанте SGECdt.

Анализ расчетных I_F аминокислотного профиля корневых выделений свидетельствует, что в контрольных вариантах наименьшая величина этого показателя характерна для сорта Софья (табл. 7). При добавлении в питательную среду солей ТМ, он никак не изменяется, что может свидетельствовать о стагнации роста растения и его переходе в состояние близкое к анабиозу. У генотипа SGE значения I_F индивидуально снижались под воздействием ТМ, а у мутанта SGECdt, наоборот, повышались. Корреляция I_F с суммарной сухой биомассой у мутантного генотипа и сорта Софья по вариантам опыта была отрицательной.

Выводы. В результате исследований впервые была детально охарактеризована биохимия корневых экссудатов различных по устойчивости к ТМ генотипов гороха посевного, в том числе уникального Cd-устойчивого мутанта SGECdt. Полученные фундаментальные знания об изменении показателей корневых выделений, вызванных загрязнением питательного субстрата в дальнейшем позволяют проводить селекционные мероприятия для поиска новых сортов, способных образовывать эффективные консорциумы с ризосферной микрофлорой, повышающие толерантность растительных культур к воздействию различных стрессов.

Аминокислоты обладают менее сильным сродством с ТМ в процессах адсорбции и десорбции, чем органические кислоты, и не так быстро, как углеводы, утилизируются почвенными микроорганизмами при образовании симбиосистем на ранних стадиях роста. Это делает их более стабильной формой для создания чувствительной тест-методики индикации внутренних изменений в таких тест-системах при металл-индуцированном стрессе, на протяжении полного цикла вегетации.

Расчет индексов фрактальной организованности механизмов в выделительной функции корневой системы растений, на примере аминокислот показал, что в контрольных вариантах наименьший показатель I_F характерен для сорта Софья. Отсутствие его изменения при добавлении в питательную среду солей ТМ может свидетельствовать о стагнации роста растения и его переходе в состояние близкое к анабиозу. Корреляция с суммарной сухой биомассой у мутантного генотипа и сорта Софья по вариантам опыта была отрицательной. Это означает, что растение затрачивает больше сил на накопление биомассы уже на ювенильной фазе своего роста с целью последующего проявления эффекта разбавления токсиканта при дальнейшем развитии.

Благодарности. Авторы признательны доктору А.А. Белимову за предоставление семенного материала.

Литература

1. Inderjit, Weston L.A. *Root Exudates: An Overview. Root Ecology. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*. Berlin: Springer-Heidelberg, 2003. Vol. 168. P. 235–255. doi: 10.1007/978-3-662-09784-7_10
2. *Root biomass and exudates link plant diversity with soil bacterial and fungal biomass* / N. Eisenhauer, A. Lanoue, T. Strecker, et al. // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. URL: <https://www.nature.com/articles/srep44641> (дата обращения: 19.06.2022). doi: 10.1038/srep44641
3. Helal H.M., Sauerbeck D. *Effect of plant roots on carbon metabolism of soil microbial biomass* // *Zeitschrift Für*

4. *Pflanzenernährung Und Bodenkunde*. 1986. Vol. 149. No 2. P. 181–188. doi: 10.1002/jpln.19861490205
5. *Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly* / K. Zhalnina, K.B. Louie, Z. Hao, et al. // *Nat. Microbiol.* 2018. Vol. 3. P. 470–480. doi: 10.1038/s41564-018-0129-3
6. *Root exudation of primary metabolites: mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli* / A. Canarini, W. Wanek, A. Merchant, et al. // *Front. Plant Sci.* 2018. Vol. 10. No 157. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2019.00157/full> (дата обращения: 19.06.2022). doi: 10.3389/fpls.2019.00157
7. *Root exudation of sugars, amino acids, and organic acids by maize as affected by nitrogen, phosphorus, potassium, and iron deficiency* / L.C. Carvalhais, P.G. Dennis, D. Fedoseyenko, et al. // *J. Plant. Nutr. Soil Sci.* 2011. Vol. 174. P. 3–11. doi: 10.1002/jpln.201000085
8. *Gransee A. Effects of root exudates on nutrient availability in the rhizosphere. Plant Nutrition. Developments in Plant and Soil Sciences. Holland: Springer, 2001. P. 626–627. doi: 10.1007/0-306-47624-X_303*
9. *Nutrient availability in the rhizosphere: a review* / T. Mimmo, Y. Pii, F. Valentinuzzi, et al. // *Acta Hort.* 2018. Vol. 1217. P. 13–28. doi: 10.17660/ActaHortic.2018.1217.2
10. *Effects of cadmium stress on growth, anatomy and hormone contents in Glycine max (L.) Merr.* / M.V. Perez Chaca, A. Vigliocco, H. Reinoso, et al. // *Acta Physiol Plant.* 2014. Vol. 36. P. 2815–2826. doi: 10.1007/s11738-014-1656-z
11. *Cadmium: toxicity and tolerance in plants* / S.A. Hasan, Q. Fariduddin, B. Ali, et al. // *J. Environ. Biol.* 2009. Vol. 30. No 2. P. 165–174.
12. *Ранжирование химических элементов по их экологической опасности для почвы* / С.И. Колесников, К.Ш. Казеев, В.Ф. Вальков и др. // *Доклады Российской Академии сельскохозяйственных наук*. 2010. № 1. С. 27–29.
13. *Елькина Г.Я. Реакция растений на полиэлементное загрязнение подзолистых почв тяжелыми металлами* // *Агрохимия*. 2017. Т. 7. С. 78–85.
14. *Combined toxicity and underlying mechanisms of a mixture of eight heavy metals* / Q. Zhou, Y. Gu, X. Yue, et al. // *Mol. Med. Rep.* 2017. Vol. 15. No 2. P. 859–866. doi: 10.3892/mmr.2016.6089
15. *A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment* / X. Wu, S.J. Cobbina, G. Mao, et al. // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016. Vol. 23. P. 8244–8259. doi: 10.1007/s11356-016-6333-x
16. *Cadmium spiked soil modulates root organic acids exudation and ionic contents of two differentially Cd tolerant maize (Zea mays L.) cultivars* / M.T. Javed, M.S. Akram, K. Tanwir, et al. // *Ecotoxicol Environ Saf.* 2017. Vol. 141. P. 216–225. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.03.027
17. *Seshadri B., Bolan N., Naidu R. Rhizosphere-induced heavy metal(loid) transformation in relation to bioavailability and remediation* // *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2015. Vol. 15. No 2. URL: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-95162015005000043&lng=en&nrm=iso&tlang=en/ (дата обращения: 19.06.2022). doi: 10.4067/s0718-95162015005000043
18. *Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings* / L.P. Popova, L.T. Maslenskova, R.Y. Yordanova, et al. // *Plant Physiol.*

- Biochem.* 2009. Vol. 47. P. 224–231. DOI: 10.1016/j.plaphy.2008.11.007
18. Sugiyama A., Yazaki K. Root exudates of legume plants and their involvement in interactions with soil microbes. *Secretions and Exudates in Biological Systems, Signaling and Communication in Plants*. Berlin: Springer-Verlag, 2012. P. 27–48. doi: 10.1007/978-3-642-23047-9_2.
 19. A chemically induced new pea (*Pisum sativum* L.) mutant SGECDt with increased tolerance to and accumulation of cadmium / V.E. Tsyganov, A.A. Belimov, A.Y. Borisov, et al. // *Ann. Bot.* 2007. Vol. 99. P. 227–237. doi: 10.1093/aob/mcl261
 20. A sterile hydroponic system for characterising root exudates from specific root types and whole-root systems of large crop plants / A. Kawasaki, S. Okada, C. Zhang, et al. // *Plant Methods*. 2018. Vol. 14. URL: <https://plantmethods.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13007-018-0380-x/> (дата обращения: 19.06.2022). doi: 10.1186/s13007-018-0380-x
 21. Evaluation of a novel tool for sampling root exudates from soil-grown plants compared to conventional techniques / E. Oburger, M. Dell'mour, S. Hann, et al. // *Environ. Exp. Bot.* 2013. Vol. 87. P. 235–247. doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.11.007
 22. Sharakshane A. An easy estimate of the PFDD for a plant illuminated with white LEDs: 1000 lx = 15 $\mu\text{mol/s/m}^2$ // *BioRxiv*. 2018. URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/289280v1.full/> (дата обращения: 19.06.2022). doi: 10.1101/289280
 23. Лаврентьева Г.В., Круглов С.В., Анисимов В.С. Динамика катионного состава почвенного раствора известкованной дерново-подзолистой почвы при загрязнении Co и Cd и изменении pH // *Почвоведение*. 2008. № 9. С. 1092–1100. doi: 10.1134/S106422930809007X
 24. Кондратьев М.Н., Роньжина Е.С., Ларикова Ю.С. Влияние абиотических стрессов на метаболизм вторичных соединений в растениях // *Известия КГТУ*. 2018. Т. 49. С. 203–219.
 25. Quantitative changes in protein expression of cadmium-exposed poplar plants / P. Kieffer, J. Dommès, L. Hoffmann, et al. // *Proteomics*. 2008. Vol. 8. P. 2514–2530. doi: 10.1002/pmic.200701110
 26. Effects of Cadmium Exposure on Growth and Metabolic Profile of Bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) / Y. Xie, L. Hu, Z. Du, et al. // *PLoS One*. 2014. Vol. 9. URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0115279/> (дата обращения: 19.06.2022). doi: 10.1371/journal.pone.0115279
 27. Glucose alleviates cadmium toxicity by increasing cadmium fixation in root cell wall and sequestration into vacuole in *Arabidopsis* / Y.Z. Shi, X.F. Zhu, J.X. Wan, et al. // *JIPB*. 2015. Vol. 57. P. 830–837. doi: 10.1111/jipb.12312
 28. Wang S., Mulligan C.N. Effects of three low-molecular-weight organic acids (LMWOAs) and pH on the mobilization of arsenic and heavy metals (Cu, Pb, and Zn) from mine tailings // *Environ Geochem Health*. 2013. Vol. 35. No 1. P. 111–118. doi: 10.1007/s10653-012-9461-3
 29. Dynamics of three organic acids (malic, acetic and succinic acid) in sunflower exposed to cadmium and lead / Z. Niu, X. Li, L. Sun, et al. // *Int. J. Phytoremediation*. 2013. Vol. 15. No 7. P. 690–702. doi: 10.1080/15226514.2012.723066
 30. The significance of methionine, histidine and tryptophan in plant responses and adaptation to cadmium stress / V. Zemanova, M. Pavlik, D. Pavlikova, et al. // *Plant Soil Environ*. 2014. Vol. 60. No 9. P. 426–432. doi: 10.17221/544/2014-PSE

Поступила в редакцию 07.07.2022
 После доработки 01.09.2022
 Принята к публикации 07.11.2022

Зоотехния и ветеринария

УДК 619:615.31:619:616-092.19:636.52/58

DOI: 10.31857/S2500262723010118, EDN: PESGKU

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ БИОРЕСУРСНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ В УСЛОВИЯХ ПЕРЕУПЛОТНЕННОЙ ПОСАДКИ, ОТЯГОЩЕННОЙ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРОЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Э.Р. Сайфульмулюков, кандидат ветеринарных наук, А.В. Мифтахутдинов, доктор биологических наук

Южно-Уральский государственный аграрный университет,
457100, Челябинская обл., Троицк, ул. Ю.А. Гагарина, 13
E-mail: ernest_saif@mail.ru

Исследование проводили с целью изучения эффективности применения фармакологических средств для сохранения биоресурсного потенциала цыплят-бройлеров в условиях переуплотненной посадки и высокой температуры окружающей среды. Птицу кросса «Ross 308» разделили на 2 группы. Плотность посадки составила в среднем $48,1 \pm 1,8$ кг/м², температура в птичниках $27,1 \pm 2,3$ °С. Выращивание и откорм осуществляли в течение 40 суток. В контрольной группе бройлерам фармакологические средства не применяли, в опытной за 6 суток до убоя использовали способ фармакокоррекции стрессов, который представлял собой 3 последовательных этапа: 1 этап подготовительный – обогащение рациона птицы метионином на 10 %, по сравнению с исходным уровнем; хлоридом калия в дозе 0,3 % и бетаином в дозе 10 % от общего объема кормов; 2 этап (повышающий термостабильность) – за 2 ч до максимально регистрируемых температур в птичнике с питьевой водой давали ацетилсалициловую кислоту в дозе 50...60 мг/кг массы тела; 3 этап компенсирующий – в вечернее время при снижении температур в птичнике до оптимальных выпаивали антистрессовый литийсодержащий водорастворимый комплекс, из расчета 195 мг на 1 кг массы тела. При использовании экспериментальной схемы отмечено снижение падежа птицы при транспортировке на 31,5 %, повышение сохранности до 94,4 %, увеличение доли тушек I сорта на 7,6 %. В сыворотке крови цыплят-бройлеров опытной группы отмечали значимое повышение общего белка на 17,1 %, холестерина – на 13,8 %, бета-липопротеидов – на 23,8 % и – кальция на 12,3 %. Мясо цыплят-бройлеров опытной группы превосходило контроль по содержанию белка на 1,08 %, тирозина – на 6,9 %, треонина – на 9,5, фенилаланина – на 15,0, лейцина и изолейцина – на 13,7 и гистидина – на 34,5 %.

THE EFFECTIVENESS OF THE COMPLEX USE OF PHARMACOLOGICAL AGENTS TO PRESERVE THE BIORESOURCE POTENTIAL OF BROILER CHICKENS IN CONDITIONS OF OVERCOMPACTED PLANTING AGGRAVATED BY HIGH AMBIENT TEMPERATURE

E.R. Saifulmulyukov, A.V. Miftakhutdinov

South Ural State Agrarian University,
457100, Chelyabinskaya obl., Troitsk, ul. Yu.A. Gagarina, 13
E-mail: ernest_saif@mail.ru

The aim of the work was to study the effectiveness of the use of pharmacological agents to preserve the bioresource potential of broiler chickens in conditions of overcrowded planting and high ambient temperature. The experimental bird of the Ross 308 cross was divided into 2 groups. The stocking density averaged 48.1 ± 1.8 kg/m², the temperature in poultry houses was 27.1 ± 2.3 °C. Growing and fattening of poultry was carried out for 40 days. In the control group, broilers were not treated with pharmacological agents; in the experimental group, 6 days before slaughter, the method of pharmacological stress correction was used, which consisted of 3 successive stages: 1 preparatory stage - enrichment of the poultry diet with methionine by 10% compared to its initial content; potassium chloride at a dose of 0.3% and betaine at a dose of 10% of the total feed; stage 2 (increasing thermal stability) - 2 hours before the maximum recorded temperatures in the house with drinking water, broilers were given acetylsalicylic acid at a dose of 50-60 mg/kg of body weight; Stage 3 - compensatory, the implementation of which began in the evening, at the time of the temperature drop in the poultry house to the optimum, and consisting in drinking a water-soluble complex, at the rate of 195 mg per 1 kg of body weight. When applying this scheme, a decrease in the mortality of poultry during transportation by 31.5%, an increase in safety to 94.4%, and an increase in the proportion of carcasses of the 1st grade by 7.6% were noted. In the blood serum of broiler chickens of the experimental group, there was a significant increase in total protein by 17.1%, cholesterol by 13.8%, beta-lipoproteins by 23.8% and calcium by 12.3%. The meat of broiler chickens of the experimental group exceeded the control in protein content by 1.08%, tyrosine by 6.9%, threonine by 9.5, phenylalanine by 15.0, leucine and isoleucine by 13.7 and histidine by 34.5%.

Ключевые слова: фармакологические средства, биоресурсный потенциал, цыплята-бройлеры, плотность посадки, тепловой стресс

Key words: pharmacological agents, bioresource potential, broiler chickens, stocking density, heat stress

Важная цель, которая стоит перед мясным промышленным птицеводством, – достижение высокой экономической эффективности. Она складывается из таких факторов, как продуктивность птицы, сохранность поголовья, максимальное снижение потерь при выращивании и откорме. Для обеспечения высокой экономической эффективности в промышленном птицеводстве специалисты постоянно работают над созданием и поддержанием необходимых условий содержания и кормления птицы.

Одновременно при выращивании мясной птицы создаются предпосылки для роста производственных рисков, к числу которых относится повышение плотности посадки [1]. Ее увеличение не только служит самостоятельным стресс-фактором, но и может способствовать развитию и других стрессов, особенно в период высокой температуры окружающей среды, в жаркое время года. Тепловая нагрузка в сочетании с переуплотненной посадкой, особенно сильно влияет на эффективность откорма птицы, поскольку достаточно тяжело регулируется доступными способами.



Регламент мероприятий, проводимых в опытной группе.

Норма посадки в промышленном птицеводстве рекомендуется в пределах 42,0...44,0 кг/м² (РД-АПК 1.10.05.04-13). Несомненно, с экономической точки зрения ее повышение оправдано, однако вместе с тем необходимо учитывать эпизоотическое состояние птичника и показатели микроклимата, которые не только будут снижать эффективность откорма птицы, но и могут привести к массовой гибели поголовья. Переуплотненная посадка способствует повышению температуры в птичнике на 20 % и микробной контаминации воздуха в 2 раза [2].

В таких экстремальных условиях птица теряет в весе, снижается потребление корма, возможен массовый падеж. Состояние птицы осложняется явлениями респираторного алкалоза [3], приводящего на фоне повышения микробной загрязненности к росту заболеваний различной этиологии. При развитии синдрома повышенной проницаемости кишечника [4], растет контаминация тушек микроорганизмами, ухудшается их качество развиваются пороки и дефекты [5]. Описанная картина усугубляется оксидативным стрессом [6].

Таким образом, стремление достичь высокой экономической эффективности и оборачиваемости вложенных средств может привести к формированию каскада стресс-факторов, на фоне которых будут регистрироваться значительные потери продуктивности и качества мяса. Экспериментальным путем, на основе опыта применения специальных фармакологических комплексов в промышленном птицеводстве [7, 8] был разработан новый способ фармакокоррекции стрессов.

В связи с изложенным, цель наших исследований – изучение эффективности применения фармакологических средств для сохранения биоресурсного потенциала цыплят-бройлеров в условиях переуплотненной посадки и высокой температуры окружающей среды.

Методика. Исследования проводили в условиях птицефабрики промышленного типа в летний период 2022 г., на птице кросса Ross 308, которую разделили на 2 группы: 94575 голов в контрольной и 94287 голов в опытной. Содержание клеточное, кормление соответствовало зоотехническим нормам, поение из nippleных поилок. Эксперимент осуществляли в условиях повышенной температуры окружающей среды в летнее время. Плотность посадки, в течение последних 6 суток до убоя составляла в среднем $48,1 \pm 1,8$ кг/м², температура в птичниках – $27,1 \pm 2,3$ °С. Выращивание и откорм птицы проводили в течение 40 суток. В контрольной группе бройлерам не давали фармакологических средств, а в опытной за 6 суток до убоя использовали способ фармакокоррекции стрессов, который заключался в корректировке рациона птицы и обогащении его метионином, хлоридом калия и бетаином, выпаивании с питьевой водой ацетилсалициловой кислоты и водорастворимого комплекса «СПАО-НС», включающего бутифосфан, аскорбиновую кислоту, янтарную кислоту, L-карнитин, цитрат лития, экстракт эвкалипта, пропиленгликоль, глюкозу, в дозе 195 мг на 1 кг массы тела (см. рисунок).

Перед убоем у птицы брали кровь из подкрыльцовой вены. Общий белок определяли рефрактометрическим методом, белковые фракции – турбидиметрическим методом, мочевины – уреазным фенолгипохлоритным методом, креатинин – по цветной реакции Яффе, глюкозу – глюкозооксидационным методом, общие липиды – по цветной реакции с сульфопосфотанилиновым реактивом, β-липопротеиды – по Бурштейну в модификации Виноградовой, холестерин – методом Илька, щелочную фосфатазу – методом Бодански, кальций – комплексометрическим методом по Уилкинсону, фосфор – фотометрическим методом с молибдатом аммония.

Содержание жира в мясе анализировали на автоматическом экстракторе жира «SER 148-6» по ГОСТ 23042-

Табл. 1. Результаты эксперимента в условиях птицефабрики промышленного типа

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа
Поголовье	94575	94287
Среднесуточный привес, г	53,00	58,41
Падеж:		
голов	10321	5267
кг	9055,60	3396,20
в том числе при транспортировке, гол		
голов	213	146
кг	427	318
Сохранность, %	89,03	94,37
Убой, гол	84254	89020
Предубойная масса, кг	189594	213263
Масса одной головы, кг	2,25	2,40
Тушка 1-го сорта		
кг	74682,23	96369,96
%	52,41	60,22
Тушка 2-го сорта		
кг	64818,99	61207,89
%	47,59	39,78

Табл. 2. Результаты биохимических исследований крови птицы ($X \pm S_x$; $n = 10$)

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа	p
Общий белок, г/л	32,68±1,03	38,26±1,89	0,037
Альбумины, %	43,04±2,48	43,50±2,70	0,701
Альфа-глобулины, %	20,06±1,36	18,29±0,99	0,276
Бетта-глобулины, %	13,17±0,97	13,19±1,49	0,748
Гамма-глобулины, %	23,71±1,99	25,04±3,10	0,898
Креатинин, Мкмоль/л	34,00±2,10	34,47±0,30	0,696
Мочевина, Ммоль/л	0,76±0,05	0,85±0,02	0,197
Глюкоза, Ммоль/л	9,55±0,50	10,57±0,38	0,109
Холестерин, Ммоль/л	3,41±0,13	3,88±0,09	0,024
Общие липиды, г/л	4,13±0,21	4,57±0,15	0,272
Бетта-липопротеиды, мг%	147,34±9,19	182,41±7,03	0,021
Щелочная фосфатаза, Е/л	1085,59±150,85	950,58±63,41	0,225
Кальций, Ммоль/л	3,29±0,14	3,69±0,04	0,054
Фосфор, Ммоль/л	2,38±0,09	2,31±0,08	0,607

2015, белка – с использованием автоматической системы определения содержания азота методом мокрого озоления с последующей перегонкой с водяным паром и титрованием по ГОСТ 25011-2017, влаги – методом высушивания в сушильном шкафу при температуре 150 ± 2 °C до постоянной массы по ГОСТ 9793-2016, золы – методом сухого озоления по ГОСТ 31727-2012, аминокислот – методом капиллярного электрофореза.

Массив полученных данных обрабатывали в пакете программ Statistica 12 с использованием непараметрического U-Критерия Манна-Уитни при уровне значимости $p = 0,05$.

Табл. 3. Химический состав мяса птицы ($X \pm S_x$; $n = 10$)

Массовая доля, %	Опытная группа	Контрольная группа	p
Влаги	76,14±0,30	74,88±0,38	0,005
Сырого протеина	22,80±0,27	23,87±0,47	0,005
Сырого жира	0,18±0,01	0,17±0,01	0,128
Сырой золы	1,38±0,05	1,35±0,06	0,575

Результаты и обсуждение. В опытной группе птицы в промышленных условиях среднесуточный привес был выше, чем в контрольной, на 10,2 % (табл. 1), сохранность за весь период выращивания – на 6,0 %, падеж – ниже на 49,0 % (5054 голов), в том числе на заключительном этапе, при транспортировке на 31,5 % (67 голов). На этапе убоя средняя масса одной головы в опытной группе была выше на 6,7 %, тушек 1 сорта получено больше на 7,6 %, по сравнению с контрольной.

Сохранность птицы при экстремальной тепловой нагрузке снижается по различным причинам, одной из которых может быть, например, тепловой коллапс [9]. Качество мяса, а, следовательно, и сортность тушек ухудшаются под влиянием процессов, развивающихся на фоне технологических стрессов, например, активной выработки кортикостерона, которая приводит к значительному катаболизму белков [10].

Дополнительное введение электролитов и ацетилсалициловой кислоты в рацион и питьевую воду может способствовать снижению температуры тела [11, 12], а добавки метионина и бетаина позволяют поддерживать функцию кишечника, тем самым оказывая положительное влияние на продуктивность [13] и качество тушек [14]. Витамин С приводит к снижению уровня кортикостерона [15], что, в свою очередь, улучшает качество продукции [16, 17].

В крови цыплят-бройлеров опытной группе под влиянием комплекса разработанных мер отмечено повышение содержания общего белка, по сравнению с контрольной, на 17,1 %, альбуминов – на 0,46 %, гамма-глобулинов – на 1,3 %, одновременно наблюдалось снижение альфа-глобулинов на 1,8 % (табл. 2). Содержание мочевины в крови птицы опытной группы возросло, по сравнению с контрольной, на 11,9 %, глюкозы – на 10,7 %, холестерина – на 13,8%, общих липидов – на 10,7 %, бетта-липопротеидов – на 23,8 %. Повышение уровня кальция в крови бройлеров опытной группы на 12,3 %, сопровождалось снижением фосфора и щелочной фосфатазы на 3,0 и 12,4 % соответственно.

Табл. 4. Аминокислотный состав мяса птицы, мг на 100 г мяса ($X \pm S_x$; $n = 10$)

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа	p
Аргинин	1170,00±26,83	1320,00±47,33	0,132
Лизин	1720,00±125,22	1883,33±90,48	0,394
Тирозин	680,00±53,67	726,67±27,33	0,026
Фенилаланин	925,00±263,86	1063,33±268,97	0,002
Гистидин	560,00±116,28	753,33±98,12	0,002
Лейцин, изолейцин (суммарно)	2225,00±174,41	2530,00±111,71	0,002
Метионин	600,00±62,61	803,33±105,96	0,132
Валин	770,00±44,72	910,00±38,99	0,132
Пролин	685,00±49,19	726,67±31,41	1,000
Треонин	965,00±76,03	1056,67±56,80	0,002
Аланин	1530,00±62,61	1760,00±96,75	0,132
Глицин	770,00±35,78	863,33±44,12	0,394

Высокая тепловая нагрузка влияет на уровень белка и кальция в крови, содержание которых снижается [18]. Поэтапная коррекция рациона и введение фармакологического комплекса в питьевую воду оказала стимулирующее влияние на белковый и липидный обмены, а также способствовало усвоению кальция.

В мясе птицы опытной группы наблюдали снижение массовой доли влаги, по сравнению с контрольной, на 1,25 % и повышение доли белка на 1,08 % (табл. 3). Уровень жира и золы снизился незначительно на 0,01 и 0,03 % соответственно.

Уровень аминокислот в мясе бройлеров опытной группы вырос, по отношению к контрольной, в пределах 6,1...9,5 % по пролину, тирозину, треонину и лизину, 12,1...18,2 % по глицину, аргинину, лейцину и изолейцину, аланину, фенилаланину и валину, 33,9...34,5 % по метионину и гистидину. Такие результаты свидетельствуют о накоплении аминокислот в мышечной ткани цыплят-бройлеров при коррекции рациона и введении фармакологического комплекса.

В целом влияние фармакологических средств на интенсивность белкового обмена в организме цыплят-бройлеров прослеживалось в сыворотке крови, содержании белка в мясе и уровне его биологической ценности, выраженной в содержании аминокислот. Реализация разработанного способа обеспечивала снижение негативного влияния на организм птицы превышения плотности посадки, при высокой температуре окружающей среды, путем комплексной поддержки обменных процессов и повышения термостабильности организма.

Выводы. Применение при откорме птицы за 6 суток до убоя разработанной схемы позволило снизить падеж цыплят-бройлеров, в том числе на этапе транспортировки на 31,5 % и соответственно повысить сохранность

до 94,4 %. Комплексный подход к решению проблемы высокой аллостатической нагрузки способствовал повышению живой массы бройлеров на 6,7 %.

В сыворотке крови цыплят опытной группы значительно увеличилось содержание общего белка на 17,1 %, холестерина – на 13,8 %, бета-липопротеидов – на 23,8 % и кальция – на 12,3 %. Их мясо отличалось более высоким содержанием белка на 1,08 %, который накапливался в мышечной ткани. Биологическая ценность мяса птицы опытной группы возросла в результате повышения содержания тирозина на 6,9 %, треонина – на 9,5, фенилаланина – на 15,0, лейцина и изолейцина – на 13,7, гистидина – на 34,5 %.

Литература.

1. Микробиологические риски в промышленном птицеводстве и животноводстве / В. И. Фисинин, В. И. Трухачев, И. П. Салеева, и др. // *Сельскохозяйственная биология*. 2018. Т. 53. № 6. С. 1120-1130. doi 10.15389/agrobiology.2018.6.1120rus.
2. Урюпина Г.М. О влиянии уплотненной посадки на резистентность молодняка и кур-несушек // В сб. науч. тр. МВА: «Совершенствование технологических приемов повышения продуктивности и жизнеспособности с.-х. птицы и пушных зверей». М., 1981. С. 77-79.
3. Сурай П.Ф., Фотина Т.И. Физиологические механизмы развития теплового стресса в птицеводстве // *Качество и безопасность*. 2013. № 6. С. 54–61.
4. Фисинин В.И., Кавтаравили А.Ш. Тепловой стресс у птицы. Сообщение 1. Опасность, физиологические изменения в организме, признаки и проявления // *Сельскохозяйственная биология*. 2015. Т. 50. № 4. С. 431-443.
5. Горшиков В.В. Влияние плотности посадки на продуктивность цыплят-бройлеров // *Вестник АГАУ*. 2015. №6. С. 45-48.
6. Сурай П.Ф., Фисинин В.И. Природные антиоксиданты в эмбриогенезе кур и защита от стрессов в постнатальном развитии (обзор) // *Сельскохозяйственная биология*. 2013. №2. С. 3-18.
7. Коррекция развития теплового стресса у цыплят-бройлеров в комплексе ветеринарно-санитарных мероприятий, применяемых на птицефабрике промышленного типа / А. В. Мифтахутдинов, Э. Р. Сайфульмулюков, С. Г. Дорофеева и др. // *Аграрная наука*. 2022. № 7-8. С. 49-54. doi 10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-44-54.
8. Мифтахутдинов А. В., Сайфульмулюков Э. Р., Пономарева Т. А. Тепловой и транспортный стресс в промышленном птицеводстве: проблемы и решение // *Российская сельскохозяйственная наука*. 2022. № 4. С. 60-65. doi 10.31857/S2500262722040111.
9. Биохимический профиль крови и химический состав мяса птицы в условиях развития транспортно-го и теплового стрессов у цыплят-бройлеров на фоне применения фармакологических средств / Э. Р. Сайфульмулюков, А. В. Мифтахутдинов, Е. А. Ноговицина и др. // *АПК России*. – 2022. – Т. 29. – № 1. – С. 78-82.
10. Dexamethasone alters the expression of genes related to the growth of skeletal muscle in chickens (*Gallus gallus domesticus*) / Z. G. Song, X. H. Zhang, L. X. Zhu et al. // *J. Mol. Endocrinol.* 2011. Vol. 46. P. 217-225.
11. Improving appearance and microbiologic quality of broiler carcasses with an allostatic modulator / M.E. Rubio-Garcia, M.S. Rubio-Lozano, E. Ponce-Alquicira et al. // *Poultry Science*. 2015. Vol. 94. P.1957-1963.
12. Borges A., Maiorka A., Silva A. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. *Ciência Rural*. 2003. Vol. 33. P. 975. doi 10.1590/S0103-84782003000500028.
13. Heat stress effect on the intestinal epithelial function of broilers fed methionine supplementation / A.P. Vesco, A.D. Khatlab, T.P. Santana et al. // *Livestock Science*. 2020. Vol. 240. P. 104152.
14. Ratriyanto A. Mosenthin R. Osmoregulatory function of betaine in alleviating heat stress in poultry // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 2018, Vol. 102. P. 1634-1650.
15. Attia Y.A., Hassan R.A., Qota E.M. Recovery from adverse effects of heat stress on slow-growing chicks in the tropics, effect of ascorbic acid and different levels of betaine // *Trop. Anim. Health Prod.* 2009. Vol. 41. P. 807-818.
16. Laying performance, digestibility and plasma hormones in laying hens exposed to chronic heat stress as affected by betaine, vitamin C, and/or vitamin E supplementation / Y.A. Attia, E.H. Aelh, A.A. Abedalla, et al. // *Springer Plus*. 2016. Vol. 5. P. 1619.
17. Orayaga K.T., Oluremi O.I.A., Adenkola A.Y. Effect of water soaking of sweet orange (*Citrus sinensis*) fruit peels on haematology, carcass yield and internal organs of finisher broiler chickens. // *J. Anim. Health Prod.* 2016. Vol. 4. № 3, P. 65-71.
18. Электролиты в кормлении птицы / С.А. Борхес, Дж.П. Де Оливейра, А.В. Фишер Да Сильван и др. // *Zootecnica International*. 2014. № 11. С. 26-34.

Поступила в редакцию 30.11.2022
 После доработки 18.12.2022
 Принята к публикации 10.01.2023

ПРОДУКТИВНОСТЬ МОЛОДНЯКА КРОЛИКОВ СОЗДАВАЕМОЙ НОВОЙ ПОРОДЫ

А.Р. Шумилина, кандидат биологических наук, **Е.В. Кровина**, кандидат биологических наук, **Е.В. Голованова**, **Н.И. Тинаев**, доктор биологических наук, **Г.Ю. Косовский**, член-корреспондент РАН

*Научно-исследовательский институт пушиного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева, 140143, Московская обл., Раменский р-он, пос. Родники, ул. Трудовая, 6
E-mail: arshumilina@mail.ru*

Цель исследования – выявление наилучшего варианта спаривания для создания новой породы кроликов по результатам оценки продуктивности и фенотипа молодняка четвертой генерации. Селекционная работа над созданием новой породы кроликов ведется с 2018 г., исходное поголовье – животные родительской формы кросса Родник. Эксперименты проводили в 2021 г. Сформированы 3 группы (всего 86 крольчих, 26 самцов): 1 – самец аутбредный × самка аутбредная (инбредное спаривание); 2 – самец инбредный × самка аутбредная; 3 – самец аутбредный × самка инбредная, получено 238 голов молодняка. Живая масса молодняка второй группы в возрасте 45 и 77 дней была выше, чем в первой и третьей на 200 г ($p < 0,001$); в 90 дней – на 400 и 300 г соответственно ($p < 0,001$). Длина тела молодняка второй группы, в сравнении с первой и третьей, в 77 дней была больше на 2,6 и 2,7 см, в 90 дней – на 1,6 и 2 см ($p < 0,001$). Обхват груди у молодняка второй группы превышал величину этого показателя, в первой и третьей группах в 77 дней на 1,2 и 1,3 ($p < 0,001$) см, в 90 дней – 0,4 и 1,3 см ($p < 0,001$) соответственно. Индекс сбитости тела молодняка кроликов подопытных групп статистически не различался и составлял 56,9...58,0 %. Спаривание по схеме, предусмотренной для второй группы, обеспечивало наибольшую продуктивность молодняка и закрепление в потомстве желательных признаков: фенотипическая однородность, живая масса в 77 и 90 дней $2,4 \pm 0,03$ кг ($p < 0,001$) и $2,9 \pm 0,03$ кг ($p < 0,001$) соответственно, среднесуточный прирост – $43 \pm 0,8$ г ($p < 0,001$). Выход убойной массы в 77 дневном возрасте у них находился на высоком уровне и был равен $50,9 \pm 0,5$ % ($p < 0,01$).

PRODUCTIVITY OF YOUNG ANIMALS OF A NEW BREED OF RABBITS BEING CREATED

A.R. Shumilina, E.V. Korovina, E.V. Golovanova, N.I. Tinaev, G.Y. Kosovsky

*Scientific Research Institute of Fur Fur Breeding and Rabbit Breeding named after V.A. Afanasyev, 140143, Moskovskaya obl., Ramenskii r-n, pos. Rodniki, ul. Trudovaya, 6
E-mail: arshumilina@mail.ru*

The purpose of the study was to identify the best mating strategy for creation a new rabbit breed according to the productivity and phenotype score of the fourth young animals generation. Selective breeding has been focused on the creation of a new rabbit breed since 2018 with the Rodnik cross parent as initial population. The experiments were carried out on the basis of the Afanas'ev Research Institute of Fur – Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding in 2021. A total of 86 rabbits, 26 bucks, were divided into following groups: 1 – outbred buck × outbred doe (inbred mating); 2 – inbred buck × outbred doe; 3 – outbred buck × inbred doe, 238 kits were obtained. The live weight of young rabbits in the second group at the age of 45 and 77 days was 200 g higher ($p < 0.001$) than in the first and third groups, and at 90 days, it was 400 and 300 g higher, respectively ($p < 0.001$). Young animals at the age of 45 and 90 days in the second group had longer bodies than those in the first and third groups by 2.6 and 2.7 cm and 1.6 and 2 cm, respectively ($p < 0.001$). Breast circumferences of young rabbits at 77 and 90 days in the second group were 1.2 and 1.3 ($p < 0.001$) cm and 0.4 and 1.3 cm ($p < 0.001$), respectively, larger than those in the first and third groups. Young rabbits in the experimental groups had a body weight index of 56.9...58.0%, which demonstrated no statistically significant difference. The mating strategy of the second group produced the highest productivity of young rabbits and helped the offspring to consolidate the following desired characteristics: phenotypic homogeneity, with live weights of 2.4 ± 0.03 kg ($p < 0.001$) and 2.9 ± 0.03 kg ($p < 0.001$) at 77 and 90 days, respectively, and the average daily increase of 43 ± 0.8 g ($p < 0.001$). At 77 days old, the yield of slaughter weight was at a high level and reached 50.9 ± 0.5 % ($p < 0.01$).

Ключевые слова: кролики, молодняк, новая порода, продуктивность, живая масса, экстерьер.

Key words: rabbits, young animals, new breed, productivity, live weight, exterior.

Важная задача в условиях уменьшения популяций диких животных – поддержание и дальнейшее расширение существующего генофонда пород, типов и кроссов одомашненных животных, разводимых для получения продуктов питания [1, 2]. Традиционно создание новых пород и кроссов происходит методом двух- и трехпородных скрещиваний. Отличительная особенность выведения новых пород животных – разведение «в себе» помесей – потомков наиболее продуктивных межпородных скрещиваний до формирования однородной, стабильной популяции животных, стойко передающих селекционируемые признаки потомству. Кроссы – это высокопродуктивные помеси, предназначенные для убоя без дальнейшего разведения. В молочном скотоводстве для повышения продуктивности используют гибридизацию – скрещивание разных видов [3]. Чистопородное разведение подразделяется на два типа: аутбридинг – система неродственных спариваний животных внутри

породы и инбридинг – система спариваний особей, имеющих близкую степень родства. В результате инбридинга создаются однородные семьи и достигается константное проявление признаков. Высшая форма чистопородного разведения – разведение по линиям [4, 5]. Важное значение для успешной селекционной работы имеет изучение сочетаемости линий и семейств конкретной породы [6, 7].

Кролиководство – это отрасль сельского хозяйства, основная задача которого заключается в производстве диетического, гипоаллергенного мяса, обладающего уникальными свойствами. Белок кроличьего мяса усваивается организмом человека на 90 %, концентрация холестерина в мясе кролика не превышает 40 мг/100 г, кроличий жир легкоплавкий и по качеству превосходит говяжий, бараний и свиной, в его составе присутствуют незаменимые и ненасыщенные жирные кислоты [8, 9].

Преимущества разведения кроликов заключаются в быстрых темпах воспроизводства, высокой плодовитости, полиэстричности, ранней половой зрелости, быстрой смене поколений, использовании корма с высоким содержанием клетчатки (в сравнении с домашней птицей), более высокой конверсией корма, чем у крупного рогатого скота или овец [10].

На сегодняшний день количество разводимых пород в России крайне ограничено, и ни по количеству, ни по породному составу имеющееся поголовье не в состоянии обеспечить потребности отрасли в племенном молодняке [11]. Поэтому актуальными направлениями в селекции служат совершенствование существующих и создание новых отечественных высокопродуктивных универсальных пород и кроссов для разведения в шедрах и кроликокомплексах [12].

Новую породу кроликов в ФГБНУ НИИПЗК создают на основе родительской формы кросса Родник, полученного по пятиэтапной схеме скрещиваний трех пород с использованием чистопородного разведения, аутбредного и инбредного видов спариваний.

По результатам исследований в 2020 г. была сформирована однородная по фенотипу селекционная группа крольчих создаваемой породы, которая соответствует следующим параметрам: плодовитость – $8,8 \pm 0,3$ гол. на самку; выход молодняка в 45-дневном возрасте на благополучно окролившуюся крольчиху – $7,3 \pm 0,3$ гол. на самку. В селекционную группу отобраны самцы со 100 %-ной оплодотворяющей способностью слученных ими крольчих и следующими продуктивными показателями: $8,3 \pm 0,4$ гол. на самку по плодовитости и $7,1 \pm 0,4$ гол. на самку по количеству выращенного молодняка к отсадке. По результатам анализа воспроизводительной способности крольчих в 2021 г. лучшим вариантом разведения было спаривание инбредных самцов с аутбредными самками [12].

Цель исследований – выявить наилучший вариант спаривания для создания новой породы кроликов по результатам оценки продуктивных качеств и фенотипа молодняка четвертой генерации, полученного в подопытных группах.

Для достижения поставленной цели изучали динамику живой массы и интенсивность роста молодняка, проводили оценку их фенотипа, параметров экстерьеря и мясной продуктивности тушек при убое.

Методика. Исследования проводили в 2021 г. на поголовье кроликов отдела звероводства и кролиководства, экспериментального кролиководства ФГБНУ НИИПЗК. Кормили животных согласно общехозяйственному рациону с использованием полноценного гранулированного комбикорма ПК-90, содержали в одноярусных шедрах, использовали ручную случку.

Для выявления наилучшего варианта спаривания родителей с целью закрепления желательных признаков в потомстве сформировали 3 группы животных: 1 – самец аутбредный × самка аутбредная (инбредное спаривание); 2 – самец инбредный × самка аутбредная; 3 – самец аутбредный × самка инбредная. В первой и второй группах было по 25 крольчих, в третьей – 36 крольчих, поскольку была возможность спаривать большее количество самок (наличие в третьей группе более 25 крольчих делает выборку репрезентативной и позволяет сравнивать полученные данные между собой). В первой и третьей группах использовали одних и тех же аутбредных по происхождению самцов в количестве 19 голов, во второй группе – 7 инбредных по происхождению самцов.

В первой группе проводили инбредное спаривание аутбредных по происхождению животных – типа брат ×



Ремонтный молодняк создаваемой новой породы кроликов в возрасте 2,5 месяца: а) самка; б) самец.

сестра, отец × дочь, мать × сын. Во второй и третьей группах применяли чистопородное аутбредное спаривание, в котором использовали потомков инбридинга первого поколения, полученных ранее.

Оценку молодняка кроликов выполняли по экстерьеру глазомерно (осмотр внешнего вида – голова, длина и форма ушей, грудь, спина и крестцово-поясничная часть, круп, развитие конечностей, окрас), а также по результатам взвешивания и измерений промеров основных статей телосложения (обхват груди за лопатками, длина туловища).

Параметры экстерьеря молодняка оценивали в возрасте 77 и 90 дней, живую массу в возрасте 45, 77 и 90 дней у животных, уравненных по плодовитости и сохранности (5...8 голов). Взвешивание проводили в утренние часы до кормления на электронных весах с точностью 10 г. По данным взвешиваний оценивали интенсивность роста крольчат: абсолютный, относительный и среднесуточный прирост.

Промеры выполняли сантиметровой лентой. Индекс сбитости (компактности) определяли по формуле: обхват груди за лопатками / длина тела × 100 %.

Для оценки мясных качеств молодняка осуществляли контрольный убой 27 кроликов (по 9 голов из каждой группы), уравненных по живой массе, в 77-дневном возрасте. Мясную продуктивность оценивали по показателям массы парной тушки (масса тушки без шкурки, внутренностей, головы и лап) и выходу убойной массы. Выход убойной массы определяли, как отношение массы тушки с жиром к живой массе кролика перед убоем, выраженное в процентах. Оценивали такие показатели тушек, как масса печени, масса сердца и легких.

Табл. 1. Динамика живой массы молодняка кроликов (M±m)

Группа	Пол	Число, гол	Живая масса в возрасте					
			45 дней, кг	Cv, %	77 дней, кг	Cv, %	90 дней, кг	Cv, %
1 группа	♂	29	1,2±0,02	8,6	2,2±0,06	13,9	2,5±0,03	6,8
	♀	28	1,2±0,03	11,8	2,2±0,04	10,3	2,5±0,04	9,1
	♂+♀	57	1,2±0,02	10,2	2,2±0,03	12,1	2,5±0,03	8,1
2 группа	♂	30	1,4±0,03	12,5	2,4±0,04	9,7	2,9±0,04	7,6
	♀	29	1,3±0,04	15,3	2,3±0,05	12,5	2,8±0,05	10,2
3 группа	♂+♀	59	1,4±0,02***1,3	13,8	2,4±0,03***1,3	11,1	2,9±0,03***1,3	8,9
	♂	58	1,2±0,02	14,9	2,2±0,05	16,8	2,6±0,04	10,8
	♀	64	1,2±0,02	14,5	2,3±0,03	12,4	2,6±0,03	9,8
	♂+♀	122	1,2±0,02	14,6	2,2±0,03	14,6	2,6±0,02	10,3
В среднем по новой породе	♂+♀	238	1,23±0,01	14,7	2,24±0,02	13,5	2,66±0,02	10,7

***различия достоверны при p < 0,001.

Площадь мышечного глаза определяли, как площадь поперечного сечения длиннейшей мышцы спины на поперечном разрезе половинки туши по последнему ребру (планиметром по рисунку разреза мышцы, предварительно переведенному на кальку, затем умножали длину «глазка» (l) на ширину (h) и на 0,8 – постоянный коэффициент овала: S = lh×0,8).

Результаты и обсуждение. Молодняк кроликов новой породы, полученный в 2021 г., в результате проведенных аутбредных и инбредных спариваний был однородным по фенотипу (общий окрас волосяного покрова белый; уши, нос, верх хвоста, лапы – темно-серые; пух – чисто белый) не зависимо от варианта спаривания (см. рисунок), по морфометрическим показателям, со-

Табл. 2. Интенсивность роста молодняка кроликов (M±m)

Группа	n	Прирост живой массы					
		абсолютный, г	Cv, %	относительный, %	Cv, %	среднесуточный, г	Cv, %
1 группа	57	1298±28	16,3	70±1,4	14,7	37±0,8	16,3
2 группа	59	1505±27***1	13,8	72±1,3	13,9	43±0,8***1	13,8
3 группа	122	1445±24***1	17,8	76±1,2***1,2	16,3	41±0,7***1	17,8
В среднем по нов. породе	238	1424±16	17,3	73±0,8	15,7	41±0,5	17,3

различия достоверны при p < 0,01; *p < 0,001.

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием компьютерной программы Microsoft Excel и критерия Стьюдента [13].

ответствовал мезосомному типу конституции (табл. 1). Анализ динамики живой массы молодняка кроликов в группах спаривания показал, что во все сроки опреде-

Табл. 3. Параметры экстерьера молодняка кроликов (M±m)

Группа	Возраст	Пол	n	Длина туловища, см	Cv, %	Обхват груди, см	Cv, %	Индекс сбитости тела, %	Cv, %	Длина ушей, см	Cv, %
1 группа	77 дней	♂	28	45,3±0,3	5,9	25,9±0,2	7,6	57,2±0,4	3,6	11,0±0,1	4,1
		♀	29	44,2±0,5	4,0	25,6±0,4	3,9	57,9±0,4	3,5	10,7±0,1	6,6
		♂+♀	57	44,7±0,3	5,1	25,7±0,2	6,0	57,5±0,3	3,6	10,9±0,1	5,6
	90 дней	♂	28	48,7±0,4	4,8	28,6±0,3	4,0	58,7±0,5	5,4	11,6±0,1	3,9
		♀	29	48,2±0,4	4,6	28,3±0,2	4,8	58,7±0,6	4,6	11,7±0,1	5,3
		♂+♀	57	48,5±0,3	4,7	28,4±0,2	4,4	58,7±0,4	5,0	11,7±0,1	4,6
2 группа	77 дней	♂	30	47,7±0,4***1,3	4,8	27,0±0,4*1	7,9	56,5±0,7	6,4	11,3±0,1	5,0
		♀	29	46,9±0,4***1	4,8	26,9±0,6	9,0	57,4±1,0	9,3	11,1±0,1**1	6,6
		♂+♀	59	47,3±0,3***1,3	4,8	26,9±0,3***1	8,4	56,9±0,6	7,9	11,2±0,1*1	5,9
	90 дней	♂	30	51,2±0,3***1,3	3,2	30,0±0,3***1,3	6,3	58,6±0,5	5,1	12,0±0,02***1	0,8
		♀	29	51,2±0,46***1,3	4,8	29,5±0,4	7,9	57,6±0,6	5,2	12,1±0,10**1	4,4
		♂+♀	59	51,2±0,27***1,3	4,1	29,7±0,3***1,3	7,1	58,1±0,4	5,2	12,1±0,05***1	3,1
3 группа	77 дней	♂	64	45,3±0,42	7,1	26,3±0,29	8,3	58,1±0,34	4,5	11,2±0,10	6,9
		♀	58	46,0±0,38	6,6	26,6±0,22	6,7	57,9±0,33	4,6	11,3±0,08	5,5
		♂+♀	122	45,7±0,29	6,9	26,5±0,18	7,5	58,0±0,24	4,5	11,2±0,06	6,2
	90 дней	♂	58	49,1±0,32	5,0	28,3±0,22	5,8	57,8±0,36	4,7	11,8±0,09	5,8
		♀	64	49,2±0,29	4,6	28,5±0,17	4,8	57,9±0,28	3,9	11,8±0,09	5,9
		♂+♀	122	49,2±0,21	4,8	28,4±0,14	5,3	57,8±0,22	4,3	11,8±0,06	5,9
В среднем по нов. породе	77 дней	♂+♀	238	45,8±0,2	6,3	26,4±0,1	7,6	57,6±0,2	5,4	11,1±0,04	6,1
	90 дней	♂+♀	238	49,5±0,2	5,0	28,7±0,1	6,0	58,1±0,2	4,7	11,8±0,04	5,1

*различия достоверны при p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001

Табл. 4. Результаты контрольного убоя молодняка кроликов

Группа		Живая масса, кг	Масса шкурки, г	Масса тушки без внутренних органов, кг	Масса печени, г	Масса сердце+легкие, г	Выход убойной массы, %	Площадь мышечного глазка, см ²
1 группа	M±m	2,4±0,03	266,2±6,7	1,20±0,01	82,2±2,9	26,0±0,8	49,2±0,3	7,15±0,33
	Cv	3,5	7,5	3,8	10,8	9,4	1,9	8,1
2 группа	M±m	2,4±0,03	239,8±6,4*** ¹	1,21±0,02	73,3±3,8	27,3±0,4	50,9±0,5*** ¹	8,13±0,15
	Cv	3,5	8,1	5,2	15,7	5,2	2,3	9,8
3 группа	M±m	2,4±0,03	251,1±7,1	1,24±0,03	76,4±3,8	25,8±0,7	50,5±0,8	7,74±0,46
	Cv	4,2	8,5	8,1	15,1	9,1	4,6	3,3
В среднем по нов. породе	M±m	2,4±0,02	252,4±4,3	1,21±0,01	77,3±2,1	26,4±0,4	50,2±0,3	7,68±0,22
	Cv	3,8	8,7	5,9	14,2	8,2	3,6	8,7

***различия достоверны при $p < 0,01$

ления наибольшие величины этого показателя характерны для особей второй группе ($p < 0,001$). В возрасте 45 и 77 дней молодняк второй группы по живой массе превосходил кроликов первой и третьей групп на 200 г ($p < 0,001$). В 90 дней особи второй группы превосходили по живой массе молодняк первой и третьей групп на 400 и 300 г соответственно ($p < 0,001$).

Следует отметить, что живая масса самцов и самок молодняка в первой и третьей группах в пределах групп была одинаковой, а во второй группе – самцы во все сроки весили больше на 100 г. Коэффициент вариации живой массы молодняка, создаваемой породы, в среднем по трем группам с возрастом снижается и к 90 дням составляет 10,7%, что свидетельствует о незначительной вариабельности признака в популяции. Таким образом, наилучшее закрепление признаков, важных при создании новой породы кроликов (живая масса молодняка), происходит при спаривании инбредных самцов с аутбредными самками.

Наибольшая интенсивность роста отмечена у кроликов второй и третьей групп, самые низкие темпы – у животных первой группы. Достоверные различия ($p < 0,001$) по абсолютному, относительному и среднесуточному приросту отмечены между третьей и первой группами – 147; 6 и 4 г соответственно (табл. 2).

Кролики новой породы по конституции относятся к мезосомному типу. В возрасте 77 и 90 дней наибольшей длиной туловища (47,3±0,3 см и 51,2±0,3 см) характеризовался молодняк, во второй группе, он превосходил животных первой и третьей групп на 2,6 и 2,7 см и на 1,6 и 2 см соответственно (табл. 3). Обхват груди кроликов второй группы в среднем по самцам и самкам составлял 26,9±0,3 см ($p < 0,001$) в 77 дней и 29,7±0,3 ($p < 0,001$) в 90 дней, что превосходило величину этого показателя у сверстников из первой и третьей групп соответственно на 1,2 и 1,3 ($p < 0,001$) см и 0,4 ($p < 0,001$) и 1,3 см ($p < 0,001$). Индекс сбитости тела у молодняка кроликов был почти одинаковым и соответствовал 56,9...58,0%.

Величины коэффициентов вариации длины туловища, обхвата груди и индекса сбитости во всех трех группах были невысокими и различались незначительно как по возрастам, так и по группами, что свидетельствует об уравненности экстерьерных показателей молодняка создаваемой породы.

Выход убойной массы тушек молодняка кроликов первой группы был ниже, чем во второй и третьей, на 1,7 ($p < 0,01$) и 1,3%. Статистически значимых различий площади мышечного глазка у тушек молодняка кроликов, в возрасте 77 дней, между группами не наблюдали. Однако у тушек животных первой группы величина этого показателя была меньше, чем у молодняка второй и третьей групп, на 13,7 и 8,3% (табл. 4).

Коэффициенты вариации массы тушки и выхода убойной массы были не высокими во всех группах, что указывает на однородность мясной продуктивности кроликов создаваемой породы.

Выводы. Таким образом, для закрепления желательных признаков при создании новой породы кроликов лучший вариант разведения по результатам оценки молодняка – спаривание инбредных самцов с аутбредными самками. В этой группе живая масса молодняка в 90 дней составила 2,9±0,03 кг ($p < 0,001$), среднесуточный прирост – 43±0,8 г ($p < 0,001$), длина тела – 51,2±0,27 см ($p < 0,001$), обхват груди – 29,7±0,03 ($p < 0,001$), выход убойной массы в 77 дневном возрасте – 50,9±0,5% ($p < 0,01$).

Литература

1. Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Глазко Т.Т. Человек и domestцированные виды (обзор) // *Biogeosystem Technique*. 2021. № 8 (1). С. 34-44. doi: 10.13187/bgt.2021.1.34.
2. Столповский Ю.А., Захаров-Гезехус И.А. Проблема сохранения генофондов domestцированных животных // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017. Т. 21(4) С. 477-486. doi: 10.18699/VJ17.266.
3. Вализаде С.И., Гурбанова Н.Ш. Улучшение селекционных качеств стада на основе гибридов // *Аграрный научный журнал*. 2022. №6. С. 56-59. doi: 10.28983/asj.y2022i6pp56-59.
4. Гавриленко В.П., Бушов А.В., Прокофьев А.Н. Внутрilineйный подбор и кросс линий при создании племенных стад в молочном скотоводстве // *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2018. № 4 (44). С. 140-145. doi: 10.18286/1816-4501-2018-4-140-145.
5. Генетическая сочетаемость линий симментальской и красно-пестрой голштинской пород / Е.И. Анисимова, М.В. Забелина, Е.В. Радаева и др. // *Аграрный научный журнал*. 2022. №1. С. 47-50. doi: 10.28983/asj.y2022i1pp93-96.
6. Анисимова Е.И., Катмаков П.С. Роль семейств и их сочетаемость с линиями в создании желательных типов симментальского скота // *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017. №2 (38). С. 97-102. doi: 10.18286/1816-4501-2017-2-97-102.
7. Анисимова Е.И., Катмаков П.С. Совершенствование линий симментальской породы скота Поволжья // *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2019. №2 (46). С. 155-160. doi: 10.18286/1816-4501-2019-2-155-160.

8. Балакирев Н.А., Дельцов А.А., Максимов В.И. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса кроликов при применении препарата на основе железогидроксид полимальтозного комплекса // Ученые записки казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2022. № 2. С. 17-22. doi: 10.31588/2413_4201_1883_2_250_17.
9. Антипова Л.В., Попова Я.А., Черкасова А.В. Продукты из мяса кроликов для здорового питания: создание ассортиментных линеек, пищевая и биологическая ценность // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2019. Т. 81. №1. С.225-231.
10. Economic weights in rabbit meat production / L. Cartuche, M. Pascual, E. Gómez, et al. // *World Rabbit Sci.* 2014. No. 22 P. 165-177. doi.org/10.4995/wrs.2014.1747.
11. Корсунь А.В., Шумилина А.Р., Куликов В.Н. Сравнительная характеристика генофонда клеточных пушных зверей и кроликов // Кролиководство и звероводство. 2021. №5. С. 24-30. doi: 10.52178/00234885_2021_5_24.
12. Формирование племенного ядра крольчих новой породы на основе оценки плодовитости и популяционно-генетической структуры / А.Р. Шумилина, Е.В. Кровина, Е.В. Голованова и др. // Кролиководство и звероводство. 2021. № 6. С. 24-35.
13. Соболев А.Д. Основы вариационной статистики: учебное пособие // М.: ФГОУ ВПО МГАВМБ, 2006. 110 с.

Поступила в редакцию 29.09.2022

После доработки 21.10.2022

Принята к публикации 18.12.2022