

*Определено, что наименее загрязненными тяжелыми металлами являются плодовые тела *Boletus edulis* Bull. ex Fr., а наиболее загрязненными – плодовые тела *Agaricus campestris* Fr.*

Ключевые слова: почва, грибы, лесная подстилка, тяжелые металлы, загрязнение, биоаккумуляция

Annatation

Bilyavsky Yu.

Features of accumulation of heavy metals of edible mushrooms

*The level of maintenance of heavy metals (Cu, Pb, Cd and Zn) in edible mushrooms which grow on the territory of Polissya part of the Zhytomyr region is investigated. The features of migration of pollutants in the system «soil - forest bedding - mushroom» are set. It was measured that the least heavy metals contamination is in the fruit bodies of *Boletus edulis* Bull. ex Fr., and the most heavy metals contamination is in the fruit bodies of *Agaricus campestris* Fr.*

Keywords: soil, mushrooms, forest bedding, heavy metals, contamination, bioaccumulation

УДК 635.21:581.143.6:631.524.86

Б.А. ЕРТАЕВА, магистрант,

Казахский Национальный Аграрный университет

Г.Л. ЛИГАЙ, доктор с.-х. наук, профессор,

Казахский НИИ картофелеводства и овощеводства, **КАЗАХСТАН**

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМЫ
УСТОЙЧИВОСТИ КАРТОФЕЛЯ К *FUSARIUM SOLANI***

*Рассматриваются биотехнологические методы, позволяющие в лабораторных условиях проводить селекционно-генетические исследования картофеля на устойчивость к *Fusarium solani*. Приведены данные по использованию культурального фильтрата *Fusarium solani* в качестве селективного агента в питательной среде при культивировании суспензионной культуры картофеля, идентификации устойчивости культуральных растений на инфекционном фоне in vitro.*

Ключевые слова: картофель, патоген, *Fusarium solani*, устойчивость

Введение. В Казахстане при поливном земледелии большой урон картофелеводству наносит патоген *Fusarium solani*, вызывающий болезнь под названием «сухая гниль» или «фузариоз». Абсолютно устойчивых к данному патогену среди сортовых и межвидовых образцов в мировом генофонде картофеля не отмечено. Между тем, от данной болезни недобор урожай в поле составляет до 23 % и потери в процессе зимнего хранения могут достигать 17 % и более. Особенно сильно от данной болезни страдают восприимчивые, но ценные сорта, такие как «Santa» (Голландия), «Арал» (Казахстан), которые могут значительно терять готовую продукцию в процессе хранения. Поскольку в традиционной селекции отсутствуют доноры устойчивости к данной болезни картофеля, то очень редко можно встретить целенаправленную селекционную работу на иммунитет к данному патогену. Последние годы к решению проблемы иммунитета к инфекционным болезням все шире подключаются биотехнологи (1-3). Биотехнологические методы позволяют предварительную рутинную работу по инфицированию и идентификации устойчивых форм картофеля проводить в лабораторных условиях с большим объемом выборок и с минимальными затратами в течение годового цикла.

Методики и материалы исследований. Каллусную и суспензионную культуру, а также соматические клоны получали по ранее разработанной технологии (4). Для получения патогенного фильтрата выделяли чистую культуру *Fusarium solani* из клубней сорта «Santa», пораженных сухой гнилью. Полученные изоляты пассировали на картофельной сахарозной питательной среде следующего состава: 200 г неочищенных ломтиков клубней сорта «Santa», 500 мл дистиллированной воды, 10 г сахарозы, 10 г бактерицидного агара «Дифко».

Для получения патогенного фильтрата (ПФ) использовали среду Ричарда, состоящую из следующих компонентов: $KNO_3 - 10$ г/л; $KH_2PO_4 - 5$ г/л; $MgSO_4 \times 7H_2O - 2,5$ г/л; $FeCl_3 - 0,02$ г/л; сахароза – 50 г/л; 1000 мл дистиллированной воды. Материалом для культивирования каллуса были очень восприимчивые к фузариозу сорта «Santa» и Арал», а также относительно устойчивый сорт «Тамаша».

Результаты и обсуждения. Предварительно полученную каллусную массу клонировали на питательную среду для морфогенеза. По истечении 16 суток для суспензионной культуры, вычленили морфогенно-глобулярные участки каллуса массой 2-3г и помещали их в жидкую среду MS с 2,4 Д – 3.0 мг/л; кинетина – 0,2 мг/л; гибберелловой кислоты – 0,1 мг/л; pH – 5,8; объем – 30 мл. Суспензию культивировали на качалке с амплитудой до 100 об/минуту при 24-26 °С.

Пассаж на свежую питательную среду проводили через 5 суток. Через 47 суток, по мере получения активно делящихся клеток в виде мелко-агрегированной (агрегат – около 2 мм в диаметре) однородной суспензионной массы, в питательный раствор добавляли селективный агент токсин в виде культурального фильтрата *S. fusarium* местного изолята S 17 (ИМББ). В качестве селективного агента были апробированы два изолята S 2 и S 17.

Таблица 1

Устойчивость клеток картофеля к токсинам *S.fusarium*

Сорта	Устойчивость к токсину S 17, %			Устойчивость к токсину S 2, %		
	10 мл	15 мл	20 мл	10 мл	15 мл	20 мл
Тамаша	61	46	30	54	32	18
Santa	36	24	8	31	14	0
Арал	40	28	13	31	17	6

Селективную проработку клеточной культуры к токсину *S. fusarium* проводили в трех вариантах по трем сортам: Тамаша, Santa, Арал: 1. вариант – на 100 мл питательной среды добавляли по 10 мл КФ; 2 вариант – 15 мл КФ; 3 вариант – 20 мл КФ. Как видно из таблицы 1 реакция клеток на присутствие КФ в среде была не одинаковой и зависела от сортотипа клеточной структуры. Так в суспензии клеток относительно устойчивого к фузариозу сорта «Тамаша» выход жизнеспособных клеток был 2-3 раза выше, чем у восприимчивых сортов «Santa» и «Арал». Но, в последующем, было отмечено, что регенерационная активность клеточных структур сорта «Арал» была намного активней, чем у сорта «Тамаша». Это, очевидно, можно объяснить тем, что в процессе воздействия токсина клетки восприимчивого сорта «Арал» получили более сильные стрессовые воздействия, чем устойчивые клетки сорта «Тамаша». В результате стрессового шока клетки индуцировали дополнительно неизвестные защитные ферменты, которые в свою очередь стимулировали активность к регенерации.

Клеточную суспензию экспонировали в КФ в течение 2-х суток, затем отмывали в слабом физиологическом растворе и пассировали на среду без токсина. Культивировали в течение 4-х суток, затем флотировали в цилиндре. Для индукции морфогенеза и регенерации брали среднюю массу клеток и пассировали на твердую питательную среду MS с 1 мг/л – 2,4Д; 100 мг/л инозита; 200 мг/л глутамина, 20г маннитола и культивировали до появления свежих колоний клеток. В следующем пассаже уменьшали гормон 2,4 Д до 0,1 мг/л, добавляли 1 мг/л зеатина и 1мг/л ИУК. Пассаж на твердой питательной среде проводили 1 раз в 10 суток. Регенерация начиналась на 38-46 сутки. Большую роль в регенерации имеет двух-трехкратная обработка морфогенных каллусов относительно низкой температурой в диапазоне 6-8 градусов с экспозицией 15-16 часов.

Таким способом было получено до 46 регенерантов с индуцированной устойчивостью к *Fusarium solani* по сортам «Арал» и «Santa». После предварительного размножения всех линий - регенерантов дополнительно идентифицировали устойчивые регенеранты на искусственном инфекционном фоне в культуре *in vitro*. Искусственный инфекционный фон создавали следующим образом. От каждой линии брали по 10 растений и помещали в пробирки с раствором Кнопа, куда предварительно добавляли живой инокулюм патогена *Fusarium solani* в концентрации 5-6 конидий в поле зрения микроскопа при 8х10 кратном увеличении в ак-

тивной форме. Для активизации патогена необходимо приготовленную суспензию с рабочей концентрацией конидий фузариоза поместить в холодильник и экспонировать в течение 40-50 минут, после чего из спорангий начнут выходить зооспоры, которые являются инфекционным началом.

После инокуляции растения желательно выдерживать в прохладном месте при температуре ниже 16 градусов в течение 4 суток, для создания благоприятных условий инфицирования. Только в этом случае можно рассчитывать на объективность оценки устойчивости растений. По этой причине искусственное инфицирование *in vitro* лучше проводить в зимний период, когда легче контролировать заданные температурные параметры в растительной комнате (фитотроне).

Таблица 2

Идентификация устойчивых к *Fusarium solani* образцов

Сорт	Всего растений, шт.	Гибель растений в динамике, шт.			Всего устойчивых растений, %
		На 4 сутки	На 8 сутки	На 12 суток	
Тамаша	40	0	0	18	55.0
Santa	30	0	25	30	0.0
Арал	120	0	18	49	44.1
контроль	30	18	30	0	0.0

В качестве контроля в испытаниях использовали исходные сорта в культуре *in vitro*. Все они погибли на 8 сутки (таб.2), тогда как предварительно отселектированные формы показали относительную устойчивость непосредственно к патогенам. Те образцы клеточных вариантов, которые погибли на 12 сутки, также можно считать устойчивыми к фузариозу относительно исходных сортов, так как в естественных природных условиях искусственно созданная плотность инокулюма практически не встречается.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами были отселектированы устойчивые к токсину *Fusarium solani* клеточные линии и на этой основе идентифицированы на искусственном инфекционном фоне устойчивые к патогену *Fusarium solani* растения картофеля. Выделенные растения в количестве 13 линии в дальнейшем будут испытываться в полевых условиях, а полученные клубни- в процессе зимнего хранения.

Выводы. Если исходить из того, что в природе пока не известны доминантные гены, контролирующие иммунитет или сверхчувствительность к патогену *Fusarium solani* у вида *Solanum tuberosum* или у их диких сородичей, то данный описанный способ является пока, на наш взгляд, наиболее эффективным и современным в селекции на устойчивость. Существует более эффективный метод решения данной проблемы с помощью генной инженерии, но на современном этапе пока нет четкой позиции безопасности использования продукции ГМР для здоровья человека.

Список использованных литературных источников

1. Волощук С.И., В.С.Гирко. Генетический анализ некоторых компонентов устойчивости к септориозу листьев и фузариозу колоса у отселектированных в культуре тканей линий пшеницы. //Материалы III международной конференции «Биотехнология в растениеводстве и ветеринарии». М.2004. с.43-45.
2. Яковлева Г.А., Гулина И.В., Дубинич В.Л. и др. Возможности биотехнологии в создании устойчивого к болезням и вредителям картофеля // Картофелеводство. Науч. труды БНИИК, вып.9. Минск, 1997, с. 64-81.
3. Лигай Г.Л., Жумагельдинов Б.К. Айтбаев Т.Е. Некоторые итоги научно-исследовательской работы по клеточной селекции.// Тематический сборник научных трудов по картофелеводству, овощеводству и бахчеводству. п. Кайнар. НИИКОХ-2004, с.36-39.
4. Лигай Г.Л. Соматональная вариабильность и железистая пятнистость картофеля // Материалы научной конференции по сельскохозяйственной биотехнологии. Целиноград, 1991. - С. 22-23.

Annotation

Yertayeva B., Ligay G.

Biotechnological processes in the solution of the problem of stability of potatoes to *Fusarium solani*

*The biotechnological methods allowing in vitro to conduct selection and genetic researches of potatoes on stability to *Fusarium solani* are considered. Data on use of a cultural filtrate of *Fusarium solani* are provided as the selective agent in a nutrient medium at cultivation of suspension culture of potatoes, identification of stability of cultural plants on an infectious background of in vitro.*

Keywords: *potatoes, pathogen, *Fusarium solani*, stability*

UDC 633.63:57.085.2

O.L. KLYACHENKO, Cand. Sc. (Biology), associate professor

A.F. LIKHANOV, Cand. Sc. (Biology), associate professor

S.A. KRYLOVSKA, teaching assistant

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,

E-mail: krylovskaya.sv@mail.ru

PECULIARITIES OF TRITERPENE SAPONINS AND PHENOLICS COMPOSITION IN LEAVES OF DIFFERENT SUGAR BEET (*BETA VULGARIS* L.) GENOTYPES IN VITRO CULTURE

*The results of studies on the composition of triterpene saponins and phenolic compounds in sort, di- and triploid hybrids of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) are represented. It was shown that triterpene saponins can be markers of productivity and adaptive capacity of plants.*

Keywords: *triterpenoid saponins, phenolic substances, in vitro culture, sugar beet*

Introduction. In the rapidly changing climate, irregular rainfalls and prolonged droughts, the study of plant resistance mechanisms to abiotic stresses becomes more urgent.

Significant role in the metabolic processes regulation, as well as the development of adaptive and protective reactions of plants belongs to saponins. The role of triterpene glycosides in plants is various and underinvestigated. They have strong surface-active properties, increase the activity of certain enzymes and have antioxidant function. It is also known about antiviral and fungicidal function of saponins, which generally determines their essential role in general nonspecific resistance system formation in plants [2].

Sugar beet contains saponins of triterpenoid type. Derivatives of oleanolic acid are included into the structure of sugar beet aglycone saponins. Their allocation in tissues of sugar beet vegetative organs is unequal. The largest number of sugar beet saponins concentrated in the outer part of a beet-root, but a relatively large amount of triterpene glycosides is also found in leaves [3]

Taking into account the important role of secondary metabolites in the adaptation responses implementation, the aim of our research was investigation of characteristics of phenolic compounds and triterpene glycosides in tissues of sugar beet vegetative organs in vitro culture and to establish the possible relationship of their synthesis with adaptive capacity and the productivity of different sort and hybrids of the Ukrainian selection.

Materials and methods. In investigation diploid sort Yaltushkiivskiy single-seeded 64, diploid hybrids Ukrainskiy MS 70, Uladovo-Verhnyatskiy MS 37, Uladovo-Veselopodolyanskiy MS 84, Atamansha and triploid hybrid Alexandriya were used. Plant regenerants were cultivated on the modified Murashige-Skoog [9] medium supplemented 1 mg/l thiamine, 1 mg/l glutamine, 0.2 mg/l 6-benzylaminopurine, 0.5 mg/l naphthaleneacetic acid, 0.1 mg/l indoleacetic acid, 2 mg/l gibberelic acid [1].

Identification of secondary metabolites in plant regenerants tissues was made by TLC method, using plates with the size 100×150 mm, sorbent – Kiesegel 60 F254 (Merck) were used. For the phenol carbonic acids and flavonoids identification were used the next solvent systems: chloroform - methanol - water (70 : 30 : 4) and chloroform - glacial acetic acid - methanol - water (60 : 32 : 12 :