

4. Fukuta, S. Differential detection of Wheat yellow mosaic virus, Japanese soil-borne wheat mosaic virus and Chinese wheat mosaic virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification reaction / S. Fukuta [et al] // Journal of Virological Methods. - 2013. - Vol. 189. - Pp. 348-354.

5. Keizerweerd, A. T. Development of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the detection of Sugarcane mosaic virus and Sorghum mosaic virus in sugarcane / A. T. Keizerweerd, A. Chandra, M. P. Grishama // Journal of Virological Methods. - 2015. - Vol. 212. - Pp. 23-29.

УДК 635.713

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО РЕЖИМА СТЕРИЛИЗАЦИИ ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ СЕМЯН БАЗИЛИКА (*OCIMUM BASILICUM L.*) В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Цеменовский Максим Анатольевич, аспирант кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева, 79852372156@yandex.ru

Аннотация: Данная статья посвящена экспериментальному исследованию стерилизующих агентов с целью нахождения среди них оптимального для дезинфицирующей обработки семян растения базилика душистого и его последующей посадки в условиях *in vitro*. Целью проведённой работы является подбор оптимальных условий стерилизации путем сравнения режимов стерилизации, а также оценка энергии прорастания и всхожести семян. По полученным в результате данным установлено, что лучшими свойствами из исследуемых стерилизаторов обладает надуксусная кислота в концентрации 1% в течение 1 мин.

Ключевые слова: стерилизация, семена базилика, *Ocimum basilicum L.*, надуксусная кислота (НУК), введение культуры, *in vitro*, энергия прорастания, всхожесть.

Введение

Базилик душистый обыкновенный (*Ocimum basilicum L.*) – однолетнее или многолетнее, в зависимости от условий прорастания, травянистое растение семейства Яснотковые (Lamiaceae). Широко используется в пищевой промышленности (мясоперерабатывающей, ликёро-водочной, консервной, в качестве специи и т. д.), традиционной и народной медицине, фармацевтике, парфюмерии и в качестве декоративного растения [6].

Базилик является ценной культурой за счёт содержания широкого спектра биологически активных веществ, в их числе эфирные масла, фенольные соединения (включая флавоноиды и антоцианы). В ряде зарубежных сообщений указывается, что фиолетовый базилик является богатым источником ацилированных и гликозилированных антоцианов и может представить интерес в качестве уникального источника стабильных красных пигментов для пищевой промышленности [5].

Базилик выращивают в основном в качестве пряно-ароматической и лекарственной культуры, поскольку эфирное масло базилика обладает выраженной антибактериальной и антиоксидантной активностями.

Столь важные и ценные для человека вещества и свойства вызвали значительный интерес к данной культуре учёных, в том числе и биотехнологов. Метод культивирования *in vitro* позволяет исследовать базилик круглогодично и сравнительно быстро. Культивирование *in vitro* обладает к тому же низкой энергоёмкостью и малыми материальными расходами, так как не требуют больших земельных площадей для посадки культуры и используют стандартное лабораторное оборудование.

Для того чтобы получить здоровый растительный материал, который будет иметь высокие показатели всхожести, необходимо произвести стерилизацию семян с целью освобождения их от поверхностной инфекции бактериального и грибкового типа.

На сегодняшний день наиболее распространёнными и эффективными стерилизаторами являются ртутьсодержащий стерилизующий агент сулема (HgCl_2) и гипохлорит натрия (NaClO). Однако, несмотря на неоспоримую эффективность данных агентов, не стоит забывать, что их действующие вещества могут угнетающе воздействовать на растения и человека: при невысоких температурах реакции ион хлора, содержащийся в гипохлорите натрия в микроколичествах способен образовывать диоксины при реакции с органическими веществами, а ионы ртути имеют свойство изменять биологические свойства белков живых организмов. Менее известным, но также сильным стерилизующим средством является надуксусная кислота.

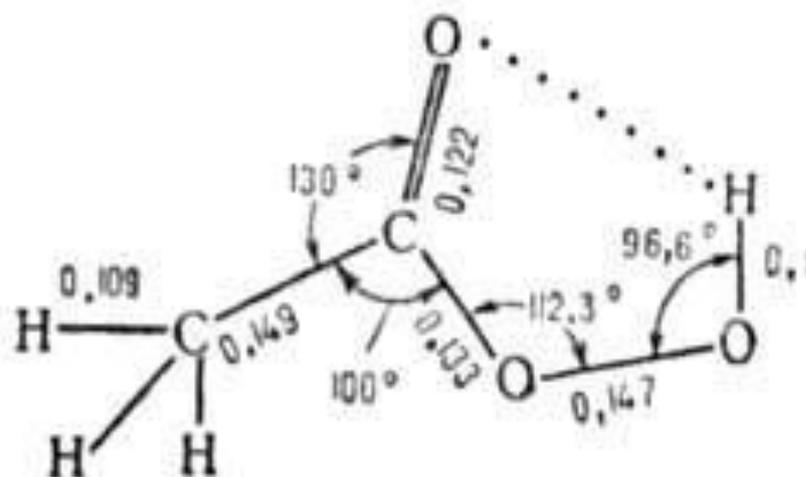
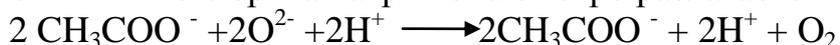


Рис. 1. Пространственная формула надуксусной кислоты с указанием длин связей в нм

Источник: [1]

Другое название - пероксиуксусная кислота, представляет собой бесцветную жидкость с резким запахом с температурой плавления $-0,1^\circ\text{C}$ и температурой кипения 110°C , хорошо растворяется в воде и органических растворителях [1].

Главное преимущество НУК заключается в экологической безопасности. В отличие от сулемы и гипохлорита натрия она быстро разлагается на безвредные компоненты:



К тому же, НУК обладает такими значимыми преимуществами как: абсолютная нетоксичность рабочих растворов, отсутствие негативного воздействия на конструкционные материалы, высокое антимикробное действие в отношении широкого спектра микроорганизмов и даже их спор при низких концентрациях [3].

Объекты и методы исследования

Исследование проводилось в биотехнологической лаборатории на кафедре Биотехнологии РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева.

В качестве объекта исследования были взяты семена базилика (*Ocimum basilicum* L.) сорта «Философ» торговой марки «Гавриш» в количестве 330 шт. В качестве питательной среды была взята безгормональная среда по прописи Мурасиге и Скуга (MS) с 5,7-5,8 рН перед автоклавированием [4].

Для работы также были подготовлены 65 чашек петри, банки с водой для удаления с поверхности семян остатков стерилизующих агентов, используемых в ходе эксперимента. Питательную среду и лабораторную посуду подвергали автоклавированию при температуре 120°C и давлении 1,1 атм. в течение 25 мин.

В качестве стерилизующих веществ были выбраны: сулема (хлорид ртути) в концентрации 0,1%, 8%-ный гипохлорит натрия, надуксусная кислота (НУК) концентрации 0,1%, 0,5% и 1%. Время стерилизации для сухих семян базилика было подобрано следующим образом:

- обработка сулемой (0,1%) – 8 и 13 мин
- стерилизация гипохлоритом натрия (8%) – 15 и 20 мин
- надуксусной кислотой (0,1%) – 1,3 и 5 мин; (0,5%) – 1 и 3 мин; (1%) – 1 и 3 мин

Для более удобной обработки стерилизатором мелкие семена базилика помещали в марлевые мешочки. По истечении времени стерилизации семена промывали трижды стерильной дистиллированной водой в условиях ламинар бокса. После промывки наблюдалось ослизнение оболочек семян, что позволило отсеять нежизнеспособные семена. Затем была произведена посадка на среду MS (по 6 семян в одну чашку Петри). Дальнейшее выращивание семян происходило в световой комнате при влажности воздуха 28%, освещенности не более 3000 люкс и температуре 20°C.

Результаты исследований

В ходе работы были произведены подсчёты энергии прорастания и всхожести исследуемых семян для качественного определения эффективности каждого вида стерилизатора, его оптимальной концентрации и времени воздействия. Все данные были занесены в сводную таблицу для лучшей визуализации полученных результатов (таблица 1).

Энергия прорастания представляет собой скорость прорастания, выражаемая в проценте семян, проросших (давших корешки, равные половине длины семени, и ростки) в срок, установленный опытным проращиванием. Высокая энергия прорастания гарантирует одновременность появления и дружность развития всходов, высокий и доброкачественный урожай [2]. Согласно данным ГОСТа 12038-84 подсчёт энергии прорастания семян базилика необходимо совершить на 4-ый день после посадки [6].

Одновременно с энергией прорастания, которая характеризует дружность всходов семян, была высчитана всхожесть, один из главных показателей качества семенного материала. От него зависит количество и густота всходов растений. Чем ближе показатель всхожести к 100%, тем меньше семян нужно для посева.

Согласно ГОСТу, под всхожестью понимается способность семян давать нормальные проростки за определенный, предусмотренный для каждой культуры свой, срок при оптимальных условиях проращивания. Всхожесть определяется в процентах проросших семян, к общему количеству высеванных и определяется на 10-ый день после посадки [7].

Энергия прорастания и всхожесть семян при обработке в различных режимах

Вид стерилизатора	Энергия прорастания (на 4-ые сутки), %	Всхожесть (на 10-е сутки), %
НУК 0,1% - 1 мин	43,3%	56,7%
НУК 0,1% - 3 мин	46,7%	63,3%
НУК 0,1% - 5 мин	66,67%	70%
НУК 0,5% - 1 мин	63,33%	73%
НУК 0,5% - 3 мин	60%	73%
НУК 1% - 1 мин	63,33%	83%
НУК 1% - 3 мин	60%	60%
Сулема 0,1% - 8 мин	50%	70%
Сулема 0,1% - 13 мин	46,7%	66,7%
Гипохлорит натрия 8% - 15 мин	60%	70%
Гипохлорит натрия 8% - 20 мин	56,7%	63,3%

Из опытных данных было получено, что хорошую энергию прорастания (60% и более) дают все варианты, кроме НУК (0,1%) в течение 1 мин. Из этого делаем вывод о недостаточном времени стерилизации, потому как увеличивая время воздействия до 3 мин всхожесть семян увеличивается на 6,6%, а до 5 мин – на 13,3%.

В производстве более выгодными будут являться варианты с 0,1% и 0,5% растворами НУК, т.к. расход действующего вещества относительно мал. Причём оптимальным временем стерилизации будет: для концентрации НУК 0,1% – 5 мин, а при – 0,5% концентрации – 1 мин. Хорошие результаты отмечаются при использовании сулемы 0,1% в течение 8 мин и гипохлорит натрия 8% в продолжение 15 мин. Однако лучше всего использовать более безопасный НУК, который даёт ту же хорошую схожесть, но при меньших концентрациях – 0,1% и 0,5%. Самым оптимальным вариантом является НУК в концентрации 1% в течение 1 мин. При этом отмечает самую высокую среду других вариаций всхожесть – 83%.

Также в ходе наблюдений были выявлены случаи заражения, причём замечено, что исходило оно от прорастающих семян. Это свидетельствует о наличии внутренней инфекции, для борьбы с которой необходимо использовать антибиотики. В ходе опыта нарушений стерильности не было.

При определении энергии прорастания и всхожести семян учитывают также поражение семян плесневыми грибами по ГОСТу (таблица 2). Также по результатам проведённой работы составлена таблица по степени поражения семян базилика исследуемого сорта «Философ» плесневыми грибами из которой следует, что действие всех видов стерилизаторов не приводит к сильной степени поражения семян плесневыми грибами (таблица 3). Наблюдается средняя, чаще всего низкая степень поражения.

Степень поражения семян плесневыми грибами

Степень поражения семян	Семена, покрытые плесневыми грибами, %
Слабая	До 5
Средняя	До 25
Сильная	Более 25

Степень поражения семян базилика сорта «Философ» плесневыми грибами

	Степень поражения семян	Семена, покрытые плесневыми грибами, %
НУК 0,1% - 1 мин	Средняя	13,3%
НУК 0,1% - 3 мин	Средняя	13,3%
НУК 0,1% - 5 мин	Средняя	20,0%
0,5% - 1 мин	Слабая	3,3%
0,5% - 3 мин	Слабая	3,3%
1% - 1 мин	Слабая	0%
1% - 3 мин	Слабая	3,3%
Сулема - 8 мин	Слабая	3,3%
Сулема - 13 мин	Слабая	3,3%
Гипохлорит натрия - 15 мин	Слабая	6,6%
Гипохлорит натрия - 20 мин	Слабая	0%

Выводы

По итогам проведённого исследования был найден оптимальный вариант поверхностной стерилизации семян базилика сорта «Философ», а именно надуксусной кислотой в концентрации 1% и продолжительности 1 мин. Другие же вариации с НУК также дали хорошие результаты наравне с использованием таких вредных стерилизующих веществ как сулема 0,1% и гипохлорит натрия 8%.

Таким образом, было показано, что стерилизующий агент НУК обладает сильной антигрибковой и антибактериальной активностью по отношению к патогенам при введении семян базилика в культуру *in vitro*, и обосновано преимущество использования надуксусной кислоты в качестве стерилизатора.

Библиографический список

1. Антоновский, В. Л. Органические перекисные инициаторы [Текст] / В. Л. Антоновский. - М., 1972. - С. 341-361.
2. Гайстер, А. И. Сельскохозяйственный словарь-справочник [Текст] / А. И. Гайстер. - Москва - Ленинград: Государственное издательство колхозной и совхозной литературы «Сельхозгиз» - 1934.
3. Глазова, Н. В. НУК: экологическая безопасная альтернатива хлору [Текст] / Н. В. Глазова, О. И. Сатина // Птица и птицепродукты. – 2010. - № 1. - 68 с.
4. Калашникова, Е. А.: Лабораторный практикум по сельскохозяйственной биотехнологии [Текст] / Е. А. Калашникова, М. Ю. Чередниченко, Н. П. Карсункина, М. Р. Халилуев. Изд. 3-е, испр. и доп. - М.: Изд-во РГАУ-МСХА. - 2014. - 147 с.
5. Писарев, Д. И. Химическое изучение состава антоцианов травы *OSIMUM BASILICUM L* [Текст] / Д. И. Писарев, К. А. Алексеева, О. О. Новиков, И. В. Корниенко, И. А. Севрук // Сетевой журнал «Научный результат». Серия «Медицина и фармация». - 2015. - Т. 1. - № 4 (6). - С. 119-124.
6. Сачивко, Т. В. Особенности агротехники и селекции базилика (*Ocimum L.*) [Текст] / Т. В. Сачивко, В. Н. Босак, Н. А. Коваленко, Г. Н. Супиченко. - Горки: БГСХА, 2015. - 28 с.

7. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести (с Изменениями N 1, 2, с Поправкой) [Электронный ресурс]. - URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200023365> (21.11.2020).

УДК 632.03

МОНИТОРИНГ РАСПРОСТРАНЕНИЯ БОЛЕЗНЕЙ НА МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУРАХ СЕМЕЙСТВА КАПУСТНЫЕ (*BRASSICACEAE*) В УСЛОВИЯХ ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ ПРЕДБАЙКАЛЬЯ

Шапенкова Светлана Владиславовна, аспирант кафедры земледелия и растениеводства Иркутского государственного аграрного университета имени А.А. Ежевского, shapenkova.svetlana@mail.ru

Сагирова Роза Агзамовна, д.с.-х.н., профессор кафедры земледелия и растениеводства Иркутского государственного аграрного университета имени А.А. Ежевского, roza.sagirova.66@mail.ru

Аннотация: Проведенный мониторинг за распространением болезней на масличных культурах семейства Капустные (*Brassicaceae*): рыжике яровом (*Camelina sativa*), рапсе (*Brassica napus*), редьке масличной (*Raphanus sativus*) и горчице белой (*Sinapis alba*), выявил поражение мучнистой росой (возбудитель *Erysiphe cruciferarum*) только на одной культуре – рыжике яровом (*Camelina sativa*).

Ключевые слова: масличные культуры, болезни, поражения, мучнистая роса.

В течение вегетации растения масличных культур семейства Капустные (*Brassicaceae*) подвержены поражению болезнями различной этиологии. При возделывании культур в разных регионах Российской Федерации комплекс болезней, поражающих культуры, может значительно различаться [1].

Целью проведенных исследований, в условиях лесостепной зоны Предбайкалья, было проведение мониторинга болезней на масличных культурах семейства Капустные (*Brassicaceae*).

Исследования проводили в условиях лесостепной зоны Предбайкалья на опытно-экспериментальном участке кафедры Земледелия и растениеводства Иркутского государственного аграрного университета имени А.А. Ежевского (*п. Молодежный, Иркутский район*) в течение четырех лет в период с 2017 по 2020 годы. Почва опытно-экспериментального участка – серая лесная слабокислая, тяжелосуглинистого механического состава, содержание гумуса в пределах 3-4%, с высоким содержанием обменного кальция и магния.

Метеорологические условия в годы исследуемого периода был выше в сравнении со среднемноголетними данными. Необходимо отметить, что осадки выпадали неравномерно.

Закладка опытов осуществлялась по методике Б.А. Доспехова [2] с использованием районированных сортов яровых культур в Предбайкалье: рыжик яровой (*Camelina sativa*) Чулымский, рапс (*Brassica napus*) Ратник, редька масличная (*Raphanus sativus*) Тамбовчанка, и горчица белая (*Sinapis alba*) Радуга, которая допущена к использованию