

«Сейфуллин оқулары – 18: « Жастар және ғылым – болашаққа көзқарас» халықаралық ғылыми -практикалық конференция материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения – 18: « Молодежь и наука – взгляд в будущее» - 2022.- Т.1, Ч.1 - С. 68-74

## **ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕСТНЫХ ИЗОЛЯТОВ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *FUSARIUM* И ИЗУЧЕНИЕ ФУЗАРИОЗОУСТОЙЧИВОСТИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ И ЗАРУБЕЖНЫХ СОРТОВ И СЕЛЕКЦИОННЫХ ЛИНИЙ КАРТОФЕЛЯ**

*Серикова Ж.К., магистрант,  
Мусынов К.М., Хасанов В.Т.  
ТОО «Казахский агротехнический  
университет имени С. Сейфуллина», г.Нур-Султан*

### **Введение.**

Обзор мирового опыта показывает, что во всех развитых странах взят курс, с одной стороны, на повышение устойчивости развития земледелия на фоне всевозрастающего негативного влияния глобальных климатических изменений, а с другой - на переход к ресурсосберегающим и органическим технологиям, направленным на улучшение экологической ситуации и сохранение окружающей среды. Это, прежде всего, высокая степень диверсификации, переход к технологии точного земледелия и цифровизация всех технологических процессов. Особое внимание уделяется на селекцию новых сортов растений с использованием ускоренных методов, основанных на молекулярной биологии и генной инженерии. Благодаря этому научные организации через каждые 5-6 лет создают и передают для практического применения новые высокоурожайные сорта сельскохозяйственных культур, устойчивых к болезням и стрессовым факторам [1].

Картофель - важнейшая сельскохозяйственная культура разностороннего использования. Клубни картофеля, в первую очередь, широко и разнообразно используются в пищу в свежем и переработанном виде (около 60%), на корм животным (около 15%) и на переработку для промышленных целей (4-5% на производство крахмала и спирта) [2].

В Республике Казахстан картофель является одним из основных продуктов питания и по своей значимости занимает второе место после хлеба. Среднее потребление картофеля на душу населения в Казахстане составляет 120–130 кг в год на человека, т.е. картофель для казахстанцев по-прежнему является «вторым хлебом». В настоящее время средняя урожайность важнейшей сельскохозяйственной культуры картофеля находится в пределах 19,5 т/га. [3]. В то же время в ряде зарубежных стран с развитым картофелеводством (Нидерланды, США, Израиль, Германия)

средняя урожайность данной культуры составляет 45-50 т/га. Низкая урожайность картофеля во многом зависит от поражаемости сортов картофеля грибными, вирусными и бактериальными заболеваниями. Наибольшую опасность при хранении картофеля, а также в засушливых регионах выращивания представляют болезни, которые передаются с клубнями. Известно, что многие виды микромицетов, относящиеся к роду *Fusarium*, в условиях агропромышленного производства, повреждают растения картофеля [4, 5].

Фузариозное увядание картофеля – опасная болезнь, она вредоносна не только для урожая текущего года, но также для следующих репродукций. Инфекция может передаваться с семенными клубнями и вызывать изреживание всходов и торможение роста растений. Источники фузариоза всегда имеются в почве и необходимо лишь некоторое ослабление растений и благоприятные условия для развития гриба (чередование влажных и засушливых периодов при высокой температуре), чтобы гриб смог проникнуть в растение. Если возбудитель болезни уже проник в растение, то дальнейшее развитие фузариозного увядания в значительной степени зависит от условий окружающей среды [6].

В Казахстане повсеместно распространено увядание картофеля – заболевание инфекционного характера, вызываемое грибами из рода *Fusarium*, вредоносность которого выражается в уменьшении урожая клубней в 2-3 раза [7].

Сухая гниль по вредоносности занимает второе место после фитофтороза. Больные посадочные клубни - причина изреживания всходов, замедленного роста и развития растений. Отход клубней при хранении достигает 20%. Кроме того, посадочные клубни, пораженные фузариозом в небольшой степени, становятся причиной потерь 7-15% урожая. В настоящее время доминирующими являются виды *F. sambucinum* (29,6%), *F. sambucinum* var. *minus* (35,1 %) и *F. oxysporum* (27,8%), которые встречаются с приблизительно одинаковой частотой [8, 9].

В литературе имеются сведения о распространении *Fusariumoxysporum* на юго-востоке Казахстана при изучении отечественных сортов и гибридов картофеля [10].

В этой связи изучение устойчивости различных сортов и селекционных линий картофеля к местным изолятам фитопатогенных грибов рода *Fusarium* является актуальной задачей.

Цель настоящих исследований - выявление местных изолятов микромицетов и изучение устойчивости различных генотипов картофеля к фитопатогенным грибам рода *Fusarium*.

Исследования проводились на базе лаборатории биотехнологии растений кафедры «Защиты и карантина растений» НАО «КАТУ им. С. Сейфуллина» в 2021-2022 гг. Объектами исследований для выделения чистых культур микромицетов рода *Fusarium* послужили клубни картофеля сортов: Aladin, Невский, *Иноватор*, Акжар, Розара, Удача, выращиваемые на экспериментальном участке и отобранные в период длительного хранения

после уборки урожая в картофелехранилище ТОО Агрофирма "GreenStar" Целиноградского района Акмолинской области.

Изучение фузариозоустойчивости проводили на различных сортах и селекционных линиях картофеля: Розара, Вега, Королева Анна, Невский, Жанайсан, Гала, Алая заря, 17223-6, 17211-20, 17249-2.

В исследованиях применялись следующие методы: визуальный, метод влажных камер, микроскопический, культурально-морфологический, молекулярно-генетический (ПЦР), биологический (искусственное инфицирование).

Метод влажной камеры. Надчистой чашки Петри помещали 2-3 кружка фильтровальной бумаги, вырезанных по диаметру чашки. Чашки Петри стерилизовали в сушильном шкафу при температуре 160°С в течение 2-х часов. После остывания надчашки наливали стерильную дистиллированную воду до полного увлажнения фильтровальной бумаги. Образцы больных клубней помещали в подготовленные чашки Петри и инкубировали в термостате при температуре 22-28°С [11].

При микроскопировании учитывали следующие параметры: длина и ширина микро- и макроконидий, форма конидий, количество перегородок согласно общепринятым в фитопатологии методике [12].

Мицелий, образовавшийся на поверхности ломтиков клубней картофеля из влажной камеры помещался в чашки Петри на подкисленный картофельный агар или на среду Чапека Докса, при контаминации посторонними микроорганизмами проводился следующий пересев до получения чистой культуры гриба.

Культура *Fusarium* была получена на питательной среде Чапека Докса, культивирование фитопатогенного гриба проводилось при температуре 26°С и 60-70% относительной влажности воздуха.

Подсчет колоний грибов проводился на 7-е сутки их культивирования. Для идентификации видового состава фитопатогенных грибов использованы определители: В.И. Билай и М.А. Литвинова [13, 14].

Молекулярно-генетическую идентификацию исследуемых микромицетов проводили методом ПЦР в классическом формате с помощью видоспецифических праймеров: Fa (5'-TCGTCATCGGCCACGTCGACTCT-3') и Ra (5'-CAATGACGGTGACATAGTAGCG-3') как описали Frank D.N. и др., 2009 [15]. ДНК из образцов выделяли с помощью набора Агродиагностика «НК-Агро» согласно инструкции производителя. Молекулярная масса целевого ПЦР-продукта – 600 п.н.

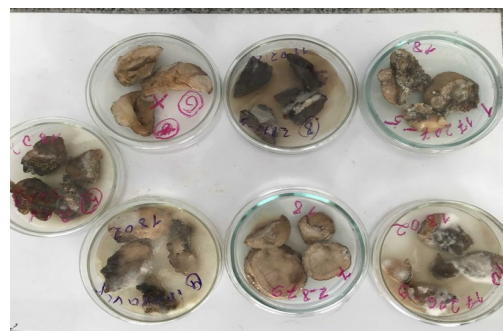
Оценку образцов на пораженность грибной инфекцией проводили по методике М.К. Хохрякова и Н.А. Наумовой [16, 17]. Инокулом для искусственного заражения клубней *F. oxysporum* готовили путем внесения мицелия изучаемой культуры гриба на ломтики клубней, толщиной 1,5 см, с надрезами - 2 мм. Чашки Петри с зараженными ломтиками инкубировали в термостате при температуре 24°С и относительной влажности воздуха 70-80% в течение 7 суток. Контроль – незараженные ломтики клубней картофеля. В качестве сорта-стандарта применяли допущенный к

возделыванию в Акмолинской области среднеранний сорт картофеля Невский [18]. Повторность опытов – трехкратная.

На рисунке 1 представлены этапы выделения чистой культуры грибов возбудителя сухой фузариозной гнили.



А



Б



В

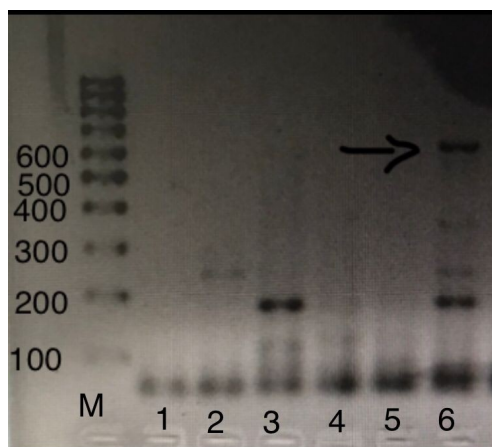


Г

А – Отбор клубней с симптомами фузариоза; Б – образование воздушного мицелия на клубневых образцах во влажной камере; В – конидии микромицетов под микроскопом (70x100); Г - чистая культура изолята «Удача» на питательной среде Чапека-Докса.

Рисунок 1 – Этапы выделения чистой культуры микромицетов рода *Fusarium* из клубней картофеля сорта Удача (фото автора)

На следующем этапе исследований методом классической ПЦР проводили видовую идентификацию изучаемых микромицетов (рисунок 2).

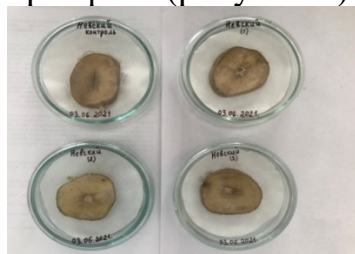


1 – Инноватор; 2 - Розара; 3 –Акжар; 4 – Аладин 2; 5 – Невский;  
6 – Удача; М – маркер молекулярных размеров (GeneRuler 100 bpDNA Ladder, Fermentas), ПЦР-продукт – 600 п.н.

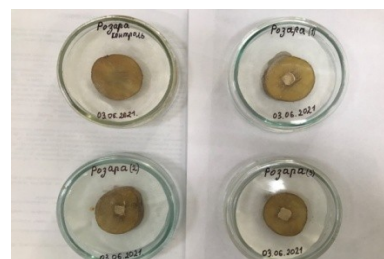
Рисунок 2 - Электрофореграмма продуктов ПЦР-амплификации различных образцов картофеля, инфицированных микромицетамирода *Fusarium*

Как видно из рисунка 2, молекулярная масса ПЦР-продукта образца №6 (изолят «Удача») соответствовала виду *Fusarium oxysporum*.

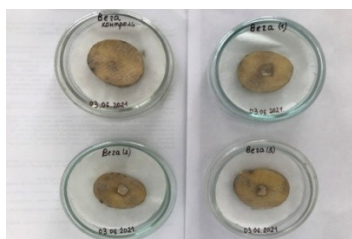
Чистая культура изолята «Удача» послужила инокулюмом для искусственного заражения клубней различных сортов и селекционных линий картофеля (рисунок 3).



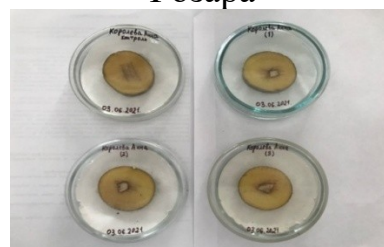
Невский (контроль)



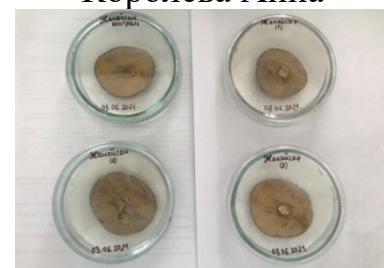
Розара



Вега



Королева Анна





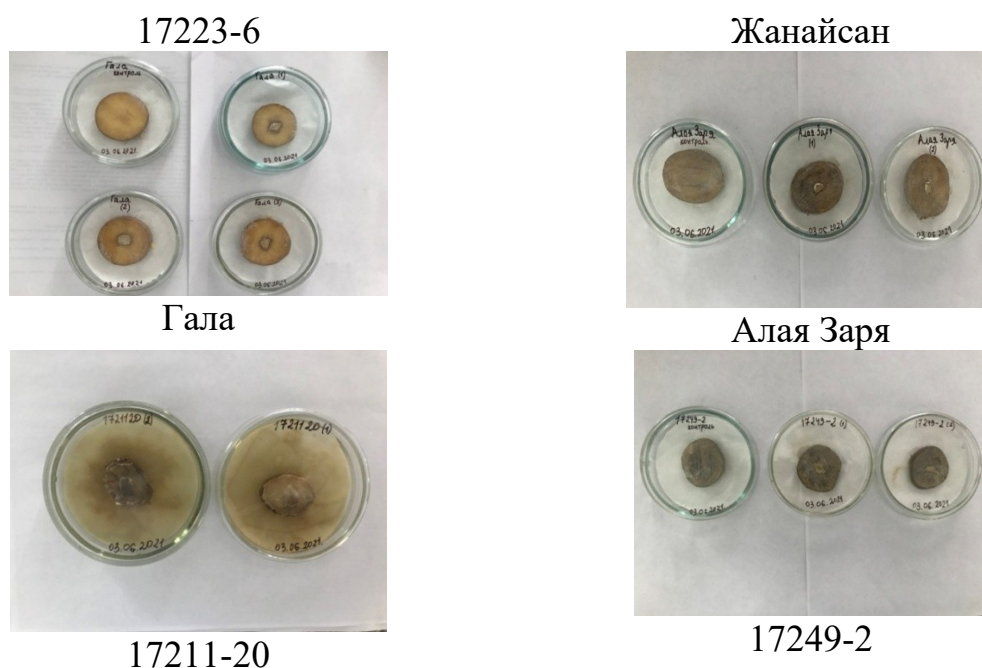


Рисунок 3 – Испытание селекционного материала картофеля на фузариозоустойчивость, 7-е сутки после инокуляции (фото автора)

Результаты изучения устойчивости клубней картофеля к *F. oxysporum* на 7-е сутки представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Оценка устойчивости отечественных и зарубежных сортов и линий к *Fusarium oxysporum* (изолят – «Удача»)

№	Сорта/линии	Балл устойчивости, 3-9	поражения ткани клубней, %	Степень устойчивости
1	Невский (контроль)	7	20	относительно высокая
2	17223-6	7	20	относительно высокая
3	Розара	8	10	высокая
4	Вега	5	38	средняя
5	Королева Анна	7	20	относительно высокая
6	Жанайсан	7	18	относительно высокая
7	Гала	5	35	относительно высокая
8	Алая Заря	7	18	средняя
9	17211-20	1	75	очень низкая
10	17249-2	7	20	относительно высокая

В результате проведенных исследований было установлено, что исследуемые сорта картофеля проявляли различную устойчивость к *F.oxysporum*. Большинство из них имели относительную устойчивость к изучаемому фитопатогену, на уровне контрольного сорта Невский, резистентность которого соответствовала характеристике оригинатора [19]. В соответствии с таблицей 1, по шкале определения устойчивости к сухой фузариозной гнили, образцы картофеля можно выстроить в следующий убывающий ряд: сорт Розара обладал высокой устойчивостью; селекционные линии 17223-6, 17249-2 и сорта: Королева Анна, Невский, Жанайсан, Гала были относительно устойчивыми; сорта Вега и Алая заря обладали средней устойчивостью, а селекционная линия 17211-20 имела очень низкую степень устойчивости к данному фитопатогену.

Согласно сообщениям отдельных авторов [20], казахстанский сорт картофеля Жанайсан является сильновосприимчивым к фузариозу. В проведенных нами исследованиях данный сорт картофеля проявлял относительно высокую устойчивость к данному фитопатогену. Согласно литературным данным [21] сорт картофеля Гала является маловосприимчивым к данному заболеванию, что также подтверждалось результатами наших исследований.

### **Заключение**

В результате проведенных исследований необходимо сделать следующие выводы:

1. Отобраны клубни различных сортов и селекционных линий картофеля с симптомами сухой фузариозной гнили, выделена чистая культура фитопатогена местного изолята «Удача».

2. Методом ПЦР-анализа установлена видовая принадлежность чистой культуры изолята «Удача» к *F. oxisporum*.

3. При инокуляции клубневого материала 10 отечественных и зарубежных сортов картофеля изолятом *F.oxisporum* «Удача» в лабораторных условиях установлено, что сорт Розара обладает высокой степенью устойчивости, относительно высокоустойчивыми являются сорта картофеля: Королева Анна, Невский, Жанайсан и селекционная линия 17223-6, сорта Вега и Алая Заря – среднеустойчивы, линия 17211-20 имеет очень низкую степень устойчивости.

Таким образом, в результате проведенных исследований выделена чистая культура местного изолята возбудителя сухой фузариозной гнили «Удача», идентифицирована его видовая принадлежность к *F. oxisporum*, отобрано 7 фузариозоустойчивых образцов картофеля для дальнейшей селекционной работы.

### **Список использованной литературы**

1 Концепция развития агропромышленного комплекса Республики Казахстан на 2021 – 2030 годы. Постановление Правительства Республики

Казахстан от 30 декабря 2021 года № 960. [Электронный ресурс]. – 2011. – URL: <https://adilet.zan.kz/rus/docs/P2100000960>

2 Аринов К.К., Мусынов К.М., Шестакова Н.А., А.А.Серекпаев. Растениеводство - Астана, Фолиант, 2016, 507 с.

3 Статистика сельского, лесного, охотничьего и рыбного хозяйства / Комитет по статистике [Электронный ресурс]. – 2019. – URL: <http://stat.gov.kz/official/industry/14.11.03.2019>.

4 Малько А.М., Анисимов Б.В., Трофимов Н.В и др. Контроль качества и сертификация семенного картофеля. – М.: ФГНУ Росинформагротех, 2003. – 316 с.

5 Dean R., Van Kan J.A., Pretorius Z.A., etc. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology - Mol Plant Pathol. 2012. Vol. 13 Pp. 414–430.

6 Попкова К.В., Шнейдер Ю.И., Воловик А.С. и др. Болезни картофеля / М.: Колос. -1980. -304 с.

7 Казенас Л.Д. Болезни сельскохозяйственных растений Казахстана. – Алма-Ата: Кайнар, 1974. – 368 с.

8 Ольга Горай. Казахстан: Как получить хороший урожай картофеля [Электронный ресурс]. – 2011. – URL: <http://www.meta.kz/618354-kazakhstan-kak-poluchit-horoshiy-urozhay-kartofelya.html> (дата обращения: 15.11.2012).

9 Воловик А.С. Гнили клубней картофеля при хранении. М.: «Колос», 1973, 72 с.

10 Асылбек А.М., Рахимова Е.В., Мироненко Н.В., Сулейменова С.Е., Красавин В.Ф., Ертаева Б.А. Идентификация возбудителя фузариоза картофеля на юго-востоке Казахстана - 2016. – № 4(91). - С.4-12

11 Воробьева М.В. Лесная фитопатология. - Екатеринбург 2005. -30с.

12 Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. и др. Методы экспериментальной микологии: справочник. - Киев, 1982. 549 с.

14 Билай В.И. Фузариозы. – Киев: Наукова думка, 1977. 442 с.

14 Литвинов М.А. Определитель микроскопических почвенных грибов. - Л., 1967. 303 с.

15 Frank DN. Barcrawl and Bartab: software tools for the design and implementation of barcoded primers for highly multiplexed DNA sequencing. [Электронный ресурс]. – 2009. – URL: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2105-10-362>.

15 Хасанов Б.А. Фузариозный вилт хлопчатника и современные методы идентификации грибов рода *Fusarium*- Ташкент, 2017. 136 с.

14 Наумова Н.А. Анализ семян на грибную инфекцию. - М., 1960. 30с.

15 Қазақстан Республикасында пайдалануға ұсынылған селекциялық жетістіктердің мемлекеттік тізбесі. / Государственный реестр селекционных достижений, рекомендуемых к использованию в Республике Казахстан – Нур-Султан, 2021 – 125 с.

16 [Электронный ресурс]. – 2018. – URL: <https://rusfarmer.net/ogorod/>



[korneplody/kartofel/sorta/srednepozdnie/nevskij.html](https://rusfermer.net/ogorod/korneplody/kartofel/sorta/srednepozdnie/nevskij.html) (дата обновления: 18.03.2022)

17 Абышева Г.Т., Бейсембина Б., Байбусинова Д.Д. Изучение устойчивости казахстанских и зарубежных сортов картофеля к сухой фузариозной гнили (*f. oxysporum*) // Республиканская научно-теоретическая конференция «Сейфуллинские чтения – 14: Астана - 2018.Т.1, Ч.1 - С.61-63

18 [Электронный ресурс]. – 2022. –  
URL: <https://rusfermer.net/ogorod/korneplody/kartofel/sorta/srednerannie/gala.html> (дата обновления: 18.03.2022)