

Эффективность применения УФ-излучения при хранении маточной сахарной свёклы

М.А. СМЕРНОВ, канд. экон. наук (e-mail: masmirnov@rambler.ru)

А.А. НАЛБАНДЯН, канд. биол. наук (e-mail: arpnal@rambler.ru)

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова»

Введение

Сахарная свёкла является стратегической культурой в экономике России, поскольку используется в качестве основного сырья при выработке сахара. Производство сахарной свёклы сосредоточено в Центрально-Чернозёмном регионе (ЦЧР), Республиках Татарстан и Башкортостан, Краснодарском и Ставропольском краях. Ежегодно площади под культурой составляют около 1 млн га.

В настоящее время селекционеры ведут работу по созданию высококачественных конкурентоспособных семян рентабельных гибридов сахарной свёклы отечественной селекции. Особая роль в селекционно-семеноводческом процессе культуры принадлежит разработке и внедрению в практику современных инновационных способов и приёмов по повышению продуктивности семян гибридов, что в последующем определяет эффективность свекловодства [1].

Одним из элементов высадочного семеноводства сахарной свёклы является послеуборочное хранение посадочного материала. Сотрудниками ВНИИСС проводятся исследования по совершенствованию способов и приёмов хранения маточных корнеплодов сахарной свёклы, показывающие

свою высокую эффективность. Так, применение на стадии послеуборочного хранения низкоинтенсивного когерентного излучения (НКИ) обеспечивает снижение уровня прорастания посадочного материала в 4 раза, а также его микробиологическую порчу — в 2 раза [2]. Обработка маточных корнеплодов сахарной свёклы перед хранением фунгицидами способствует подавлению развития основных возбудителей кагатной гнили при разных режимах хранения, что в сравнении с традиционным способом хранения (без обработки фунгицидами) повышает на 2,5–4,5 % выход пригодного к высадке посадочного материала, а в последствии позволяет получить больший на 8–20 % урожай семян культуры [3]. При этом малоизученным остаётся вопрос использования ультрафиолетового (УФ) излучения в семеноводстве сахарной свёклы.

УФ-излучение представляет собой электромагнитное излучение, занимающее спектральный диапазон между видимым и рентгеновским излучениями в интервале от 205 до 315 нм. Спектр УФ-излучения делится на три диапазона: UV-A — длинноволновое (315–400 нм); UV-B — средневолновое (280–315 нм); UV-C —

коротковолновое (100–280 нм). Обеззараживание под действием УФ-излучения происходит за счёт фотохимических реакций внутри микроорганизмов. Ключевые процессы в растениях, подверженных воздействию УФ-излучения, включают фотосинтез, биомассу, дыхание, транспирацию и проч. Средневолновое (UV-B) излучение становится серьёзной угрозой для организмов из-за уменьшения содержания стратосферного озона. Стресс вызывает изменения на молекулярном уровне путём деградации белка, изменения двойной спиральной структуры ДНК и содержания антиоксидантов и т. д. Однако в условиях ультрафиолетового стресса растения вырабатывают защитные механизмы толерантности [4, 5].

В настоящее время в практике имеется ограниченная информация о физиологических и биохимических реакциях сахарной свёклы на ультрафиолетовый стресс, при этом отсутствуют сведения о молекулярных механизмах и генах, участвующих в реакции культуры на этот стресс.

Таким образом, изучение действия и последствий применения УФ-излучения в семеноводстве сахарной свёклы является весьма актуальным направлением исследований.

Цель и задачи исследований

Цель научной работы — изучение применения УФ-излучения в системе послеуборочного хранения маточных корнеплодов сахарной свёклы.

Задачи исследований: 1) установить степень влияния различных экспозиций УФ-излучения на сохранность посадочного материала; 2) выявить влияние УФ-излучения на продуктивность семенных растений сахарной свёклы; 3) определить последствие влияния УФ-излучения на генетическую изменчивость полученных семян сростноплодного опылителя сахарной свёклы.

Материалы исследований

Для исследования УФ-излучения на маточных корнеплодах сростноплодного опылителя сахарной свёклы использовали переносную установку. Источником излучения являлась бактерицидная (дезинфекционная) лампа Philips TUV 30W, которая излучает коротковолновые ультрафиолетовые лучи с максимумом на длине волны 253,7 нм (UV-C). Бактерицидный поток — 11,2 Вт. Обработку маточных корнеплодов опылителя УФ-излучением проводили с расстояния от их поверхности 50–60 см. Хранили маточные корнеплоды в специализированном корневом хранилище. Условия хранения нерегулируемые. Длительность хранения 167 суток. Все исследования проводили в трёхкратной повторности. Математическую обработку экспериментальных данных выполняли методом дисперсионного анализа, используя приложение Microsoft Excel.

Схема опыта: контроль — без обработки; обработка УФ-излучением в экспозициях 60, 90, 120 и 180 с.

Для молекулярно-генетического изучения растений данного гетерозисного опылителя

экстрагировали ядерную ДНК из зелёной массы модифицированным SDS-методом с применением ацетата аммония [6]. Качество полученной нуклеиновой кислоты оценивали электрофорезом в 1,2 % агарозном геле. Классическую ПЦР осуществляли на приборе SimpliAmp (ThermoFisherScientific, США). Протокол ПЦР: 1) предварительная денатурация 94 °C в течение 4 мин; 2) далее 35 циклов: денатурация 94 °C — 35 с; отжиг — 45 с; элонгация при 72 °C — 60 с; 3) заключительная элонгация при 72 °C — 7 мин. В работе по типированию изучаемых растений сахарной свёклы использовали 6 SSR-праймеров к микросателлитным локусам генома сахарной свёклы: Unigene 24552, Unigene 14805, Unigene 7492, Unigene 22373, Unigene 27833, Unigene 17623 [7].

Результаты исследований и их обсуждение

Показатели сохранности маточных корнеплодов сростноплодного опылителя сахарной свёклы, обработанные УФ-излучением

в различных экспозициях, представлены на рис. 1. Данные демонстрируют существенные различия между контролем и вариантами опыта с УФ-излучением. Если после продолжительного хранения потери массы в контроле составили 5,4 %, то в вариантах с УФ-излучением они варьировали в интервале 2,7–3,8 %, или были ниже в 1,4–2,0 раза. Минимальные потери массы наблюдались при обработке УФ-излучением в экспозициях 120 и 180 с.

Наряду со снижением потерь массы маточных корнеплодов обработка УФ-излучением позволила уменьшить их прорастание. В вариантах опыта с УФ-излучением количество проросших маточных корнеплодов было на уровне 76,67–83,33 %, что меньше, чем на контроле (90 %), на 6,67–13,3 % абс. (в абсолютном выражении), или в 1,0–1,2 раза.

В то же время установлено положительное влияние УФ-излучения на снижение микробиологической порчи маточных корнеплодов при длительном хранении, что можно объяснить его биоцидным дей-

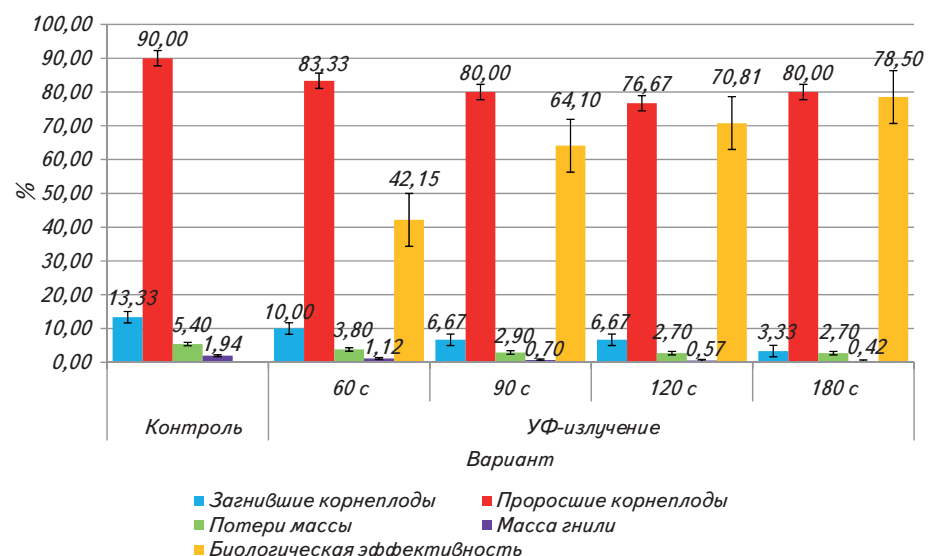


Рис. 1. Эффективность УФ-излучения в процессе хранения маточных корнеплодов опылителя

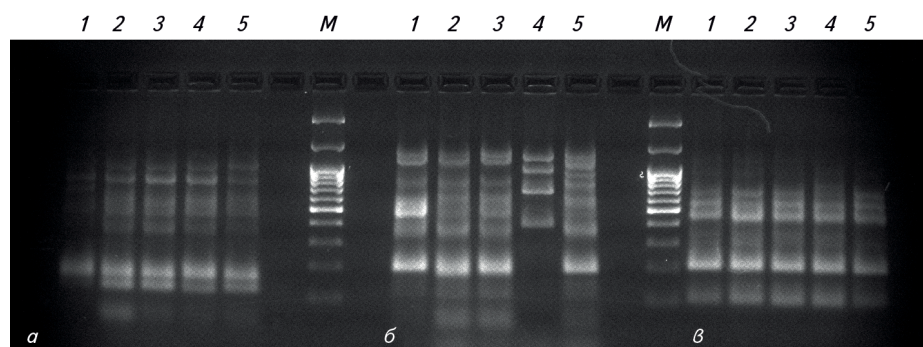


Рис. 2. Электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов, полученных с праймерами к SSR-локусам: а) Unigene 24552; б) Unigene 17623; в) Unigene 27833. Обозначения: 1 – экспозиция 60 с; 2 – экспозиция 90 с; 3 – экспозиция 120 с; 4 – без обработки; 5 – экспозиция 180 с. М – маркер молекулярных масс ДНК GeneRuler™ (ThermoScientific, США)

ствием на патогены корневых гнилей. В результате УФ-излучение вызывает деструктивные изменения жизненно важных биологических структур клетки патогена, в первую очередь молекул ДНК, а также белковых молекул клеточной мембраны.

Применение УФ-излучения перед хранением способствовало снижению количества загнивших маточных корнеплодов с 13,33 % (контроль) до 3,33–10 %. При этом в обработанных корнеплодах после хранения содержание гнилой массы было 0,42–1,12 %, что ниже в 1,7–4,6 раза по сравнению с контролем (1,94 %). Максимальный результат достигается при обработке маточных корнеплодов в экспозициях 120 и 180 с, где биологическая эффективность приёма хранения составила 70,81 и 78,50 % соответственно. Обработка маточных корнеплодов УФ-излучением в экспозициях 60 и 90 с обеспечила биологический эффект на уровне 42,15 и 64,10 %.

Для изучения влияния УФ-излучения на генетическую структуру маточных корнеплодов сахарной свёклы проведён ПЦР-анализ полученных семян сростноплодного опылителя с использованием

микросателлитных маркеров. Были использованы 6 полиморфных Unigenes-маркеров для молекулярно-генетического типирования растений изучаемого генотипа, полученных после воздействия на маточные корнеплоды разных вариантов УФ-излучения [7].

Аmplification ДНК с использованием SSR-маркеров Unigene 24552, Unigene 17623 и Unigene 27833 в изученных образцах не выявила каких-либо изменений в геноме растений. Исключение составляет растение под № 4 (без обработки, Unigene 17623), у которого происходит потеря одного ампликона длиной 200 п. н. (рис. 2).

Проведение полимеразно-цепной реакции с праймерами Unigene 7492, Unigene 14805 и Unigene 22373 в изученных образцах также не выявило существенных изменений в геноме изучаемого генотипа. Исключение составляет растение под № 5 (180 с, Unigene 14805), у которого происходит потеря одного ДНК-фрагмента размером 1000 п. н.

Можно предположить, что генотип растений, полученных из корнеплодов без УФ-обработки, не отличался от генотипов растений, выращенных из корнеплодов

с обработкой. Как представляется, применённые доза и время экспозиции излучения не вызвали мутаций на генном уровне, а явились мощным фактором стимулирования генов, отвечающих за защиту растений от влияния абиотических факторов, в частности от УФ-излучения.

Заключение

Проведённые исследования выявили эффективность использования УФ-излучения на стадии послеуборочного хранения маточных корнеплодов сахарной свёклы для обеспечения их лучшей сохранности при длительном хранении. Приём обработки маточных корнеплодов УФ-излучением в экспозициях 120 и 180 с обеспечил максимальный эффект в процессе хранения.

В результате молекулярно-генетического тестирования образцов сахарной свёклы, полученных после воздействия УФ-излучения на маточные корнеплоды, изменений в их геноме по исследованным микросателлитным локусам не выявлено.

В дальнейшем предполагается продолжить изучение влияния УФ-излучения на сохранность маточных корнеплодов сахарной свёклы, а также экспрессию генов полученных семян сростноплодного опылителя.

Список литературы

1. Серёгин, С.Н. Приоритеты развития российского семеноводства сахарной свёклы / С.Н. Серёгин, А.В. Корниенко // Сахарная свёкла. – 2022. – № 7. – С. 6–9.
2. Подвикина, О.А. Влияние низкоинтенсивного когерентного излучения на сохранность посадочного материала / О.А. Подвикина, И.И. Бартенев, С.В. Сашенко // Лесотехнический журнал. – 2018. – Т. 8. – № 4 (32). – С. 23–28.



strube



Семена. С 1877 г.

<САХАРНАЯ СВЁКЛА>

.новые гибриды урожайного типа

.высокий выход сахара

.цифровая селекция



+7 495 514 02 82

info@strube.ru @struberus

3. Эффективность фунгицидов «Кагатник» и «Ровраль» в семеноводстве сахарной свёклы / А.В. Новикова, Г.А. Селиванова, И.И. Бартенев, Д.С. Гаврин // Сахар. — 2019. — № 3. — С. 32–35.

4. Современные направления развития источников УФ-излучения бактерицидного диапазона / А.С. Бугаев, Е.П. Шешин, Д.И. Озол [и др.] // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: физика-математика. — 2017. — № 4. — С. 24–38.

5. An Insight into the Abiotic Stress Responses of Cultivated Beets (*Beta vulgaris* L.) / S. Yolcu, H. Alavilli, P. Ganesh [et al.] // Plants. — 2022. — 11(1):12. — URL: [//www.mdpi.com/2223-7747/11/1/12](https://www.mdpi.com/2223-7747/11/1/12) (дата обращения: 7.03.2023).

6. Efficient and nontoxic DNA isolation method for PCR analysis / A.S. Hussein, A.A. Nalbandyan,

T.P. Fedulova, N.N. Bogacheva // Russian Agricultural Sciences. — 2014. — V. 40. — Is. 3. — P. 177–178.

7. Fugate, K. Generation and Characterization of a Sugarbeet Tran-

scriptome and Transcript-Based SSR Markers / K. Fugate, D. Fajardo, B. Schlautman [et al.] // The Plant Genome. — 2014. — V. 7. — № 2. — P. 1–13.

Аннотация. Представлены результаты исследований по применению УФ-излучения в технологии хранения маточных корнеплодов сахарной свёклы с целью повышения сохранности посадочного материала. Обработка УФ-излучением маточных корнеплодов перед хранением позволяет снизить потери массы в 1,4–2,0 раза, прорастание – в 1,0–1,2 раза, загнивание – в 1,3–4 раза. Биоцидный эффект УФ-излучения проявляется в снижении массы гнили, и, как следствие, биологическая эффективность приёма хранения составляет 42–75,5 %. Молекулярно-генетическое тестирование полученных семян не выявило отрицательного последствие обработки посадочного материала УФ-излучением.

Ключевые слова: приём, хранение, семеноводство, сахарная свёкла, эффективность, последствие.

Summary. The results of research on the use of UV radiation in the technology of storage of sugar beet mother roots in order to improve the safety of planting material are presented. Treatment of sugar beet mother roots before storage with UV radiation reduces weight loss by 1.4–2.0 times, germination – by 1.0–1.2 times, rotting – by 1.3–4 times. The biocidal effect of UV radiation is manifested in a decrease in the mass of rot and, as a result, the biological efficiency of storage reception is 42–75.5 %. Molecular genetic testing of the obtained seeds did not reveal a negative aftereffect of UV treatment of the planting material.

Keywords: reception storage, seed production, sugar beet, efficiency, aftereffect.