*Кілті сөздер*: телітуші, телуші, телу, сорт, қияр, асқабақ, өнімділік

# S. Jantassov<sup>1</sup>, A. Nusupova<sup>1</sup>\*, A. Jantassova<sup>1</sup>, G. Bari<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Regional Filial of «Kainar», Fruit & Vegetable Research Institute LLP, Kainar v., Kazakhstan, s\_jantassov@mail.ru, aigul.nusupova.65@mail.ru, aigerim-jantasova@mail.ru.

<sup>2</sup>«Kazakh National Agrarian Research University» NPJSC, Almaty, Kazakhstan, baracuda.co@mail.ru

# COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE PRODUCTIVITY OF CUCUMBER VARIETIES GRAFTED WITH TONGUE METHOD ON THE FIG-LEAF GOURD (CUCURBITA FICIFOLIA)

#### **Abstract**

Grafting of cucumber on other species of the family has a positive effect on the growth and development of grafted plants, increasing the productivity and stability of grafted samples. In these studies, the effect of a new rootstock material, the fig-leaved pumpkin, a sample from Korea by Seminis, on grafted cucumber varieties Adritto and Asylym was studied in greenhouse conditions. The results showed an increase in productivity in grafted cucumber varieties compared to their rootstock samples. Thus, the Adritto variety showed 15.9 kg/m2, its rootstock sample showed 12.9 kg/m2, an increase of 23,2%, while the Asylym variety showed 17.0 kg/m2 and 14.7 kg/m2, respectively, an increase of 15.7%. There was an increase in the number of flowers and fruits in the grafted cucumber varieties, and the increase in productivity was due to the greater number of fruits: the grafted Adritto variety had a total of 512 fruits, while the rootstock variety had 417 fruits. The grafted Asylum variety had 544 fruits, while the rootstock variety had 419 fruits. Due to the fact that the fig-leaved pumpkin is not inferior to other rootstock samples in terms of all key indicators and shows good results, it can be used as a rootstock for various greenhouse cucumber varieties.

**Key words:** rootstock, scion, grafting, variety, cucumber, pumpkin, productivity

### Вклад авторов

Джантасов С.К. - Написание – обзор и редактирование; Нусупова А.О. – Визуализация, первоначальный проект; Джантасова А.С. – Методология; Бари Г.Т. - Формальный анализ.

#### МРНТИ 62.37.29 68.37.13

**DOI** https://doi.org/10.37884/3-2025/14

A.C. Низкородова $^{*1}$ , Р.В. Крылдаков $^{l}$ , Н.Ж. Каримов $^{l}$ , Н.С. Полимбетова $^{l}$ , Б.К. Искаков $^{l}$ 

<sup>1</sup> РГП «Институт Молекулярной Биологии и Биохимии им. М.А. Айтхожина», Алматы, Казахстан, cool.niz@yandex.ru

# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОКЛУБНЕЙ ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЙ КАРТОФЕЛЯ СОРТА ГАЛА

#### Аннотация

Микроклубни играют важную роль в технологии производства семенного картофеля, поскольку они имеют большие преимущества при хранении, транспортировке и механизации благодаря своему небольшому размеру и весу. Производство микроклубней в стерильных условиях является хорошим способом производства здорового семенного материала. В данной работе мы проводили сравнительный анализ микроклубней картофеля сорта «Гала»

(«NORIKA» GMBH, Германия) и ряда трансгенных линий, полученных на основе этого сорта. Трансгенные растения были получены ранее в рамках исследования применения подхода HIGS (host-induced gene silencing) для контроля патогена растений картофеля и томатов Phytophthora infestans. Реализация метода HIGS приводит к тому, что трансгенные растения экспрессируют короткие интерферирующие РНК (siRNA), которые при заражении таких растений патогеном вызывают у последнего сайленсинг генов его эффекторных белков, что препятствует прорастанию и размножению патогенного организма в растении. Основой этого метода является модификация растений сравнительно короткими трансгенными кассетами не кодирующих целевые белки. Поэтому ожидается, что подобные трансгенные растения не должны иметь фенотипических и физиологических отличий от растений исходного сорта. Нами были получены микроклубни не модифицированных растений и шести линий трансгенных растений, несущих три типа трансгенной вставки. Нами сравнивались такие свойства полученных микроклубней как масса, период покоя, внешний вид, скорость и процент прорастания в почве. Полученные данные показали отсутствие статистически достоверных отличий трансгенных и нетрансгенных микроклубней по всем исследованным свойствам, кроме скорости прорастания в почве. Две из шести исследованных трансгенных линий показали увеличение скорости прорастания в открытом грунте в ~ 1,6 раза.

**Ключевые слова:** PHK-интерференция, Phytophthora infestans, Host Induced Gene Silencing, siRNA, трансгенные растения, Avr3a, Avh246, PITG\_03155.

#### Введение

Представитель класса Оомицет *Phytophthora infestans* поражает томаты и картофель по всему миру. Было показано [1,2], что потери непосредственно от поражения картофеля *P. infestans* составляют в среднем 10-30% от мирового урожая картофеля. В годы, благоприятные по климатическим условиям для развития фитофторы, потери урожая могут достигать 50-70%, как это было показано в 2007 г. в Пакистане [3]. Большинство экономических анализов склоняются к тому, что общемировые потери от пораженности картофеля *P. infestans* составляют 3-5 млр \$ в год [4].

Одним из перспективных способов контроля этого патогена является получение устойчивых растений с использованием РНК-интерференции. Метод HIGS (Host Induced Gene Silencing) заключается в том, что РНК-интерференция к какому-то гену необходимому для патогена вызывается в клетках растения-хозяина, а уже из хозяина малые интерферирующие РНК (siRNA) попадают в клетки патогена в процессе инфекции, где и осуществляют сайленсинг его генов [5]. Общий механизм РНК-интерференции известен как высокоспецифичный процесс деградации в клетке мРНК из-за наличия комплиментарных ей двуцепочечных РНК (dsRNA) [6]. С практической точки зрения РНК-интерференция используется для борьбы с фитопатогенами, включая вирусы, насекомых-вредителей, бактерии, грибы и оомицеты [7,8].

В нашей лаборатории был сконструирован ряд генно-инженерных конструкций [9], которые предназначены для индукции сайленсинга таких генов эффекторов фитофторы как: Avr3a-b, PITG\_03155, Avh246. После проведения генетической трансформации мы получили шесть трансгенных линий картофеля сорта Гала с подтверждённой вставкой: три линии с 'Avr3a', две – с 'Avh246' и одну – с 'PITG\_03155'. Поскольку концепция метода HIGS предполагает трансформацию трансгенной вставкой, состоящей из небольшой части генаэффектора патогена [10,11], то исследователи полагают, что получаемые трансгенные организмы будут иметь минимальные отличия от исходных организмов. В данной работе мы проверили это предположение на примере микроклубней, полученных в условиях *in vitro* от полученных нами шести трансгенных линий картофеля, которые сравнивали с микроклубнями исходных не модифицированных растений. Таким образом, целью исследования является получение данных о возможных отличиях микроклубней трансгенных растений картофеля от исходных растений на примере сорта Гала. Задачами исследования было следующее: получить микроклубни растений, выращиваемых *in vitro*, сравнить физические характеристики

микроклубней, а также сравнить способность к прорастанию и формированию жизнеспособных растений трансгенных и нетрансгенных растений картофеля.

### Методы и материалы

Источник трансгенных линий картофеля. Трансгенные линии картофеля были получены нашей исследовательской группой ранее в рамках той же самой научной задачи с помощью агробактериальной трансформации междоузлий стерильных растений [9]. Начальная проверка растений-регенерантов на наличие трансгенной вставки проводилась с помощью ПЦР-анализа со специфичными праймерами на 35S промотор (Fw-35S\_3end) и терминатор (Rv-35Ster) вируса мозаики цветной капусты (CaMV). После первичного отбора проводился ПЦР-анализ со специфичными праймерами непосредственно на целевые вставки: 'Avr3a' (Fw\_infAvr3a и Rv\_infAvr3a), 'Avh246' (Fw\_infAvh и Rv\_infAvh) и 'PITG\_03155' (Fw\_infPITG и Rv\_infPITG). Методическая процедура и результаты описаны в работе Nizkorodova et.al ранее [9].

Микроразмножение растений. Проростки размножали с помощью одноузловых эксплантов. Экспланты культивировали в пробирках Kimble Culture Tubes («DWK Life Sciences») с двухсторонними колпачками Magenta («Merk») на среде MS (базальная среда Мурасиге-Скуга, «Sigma»), содержащей 2 мг/л глицина, 100 мг/л мио-инозитола, 0,5 мг/л никотиновой кислоты, 0,5 мг/л пиридоксина-HCl, 0,1 мг/л тиамина-HCl, 25 г/л сахарозы и 0,6% агара; рН доводили до 5,8-6 перед добавлением агара и автоклавированием. Количество среды в пробирках составляло 10-15 мл. Пробирки культивировали при температуре 23°С и 16-часовом фотопериоде. Стерильный картофель микроразмножали *in vitro* путем субкультивирования верхних побегов или сегментов стебля, включая пазушные почки, каждые 4-5 недель.

Получение микроклубней картофеля. Растения картофеля как трансгенные, так и не трансгенные выращивали в культуральных пробирках Kimble Culture Tubes ("DWK Life Sciences") с пластиковыми крышками Magenta типа «2-way caps» ("Merk") на среде MS (MS Basal Medium, "Sigma"), содержащей 2 мг/л глицина, 100 мг/л мио-инозитола, 0,5 мг/л никотиновой кислоты, 0,5 мг/л пиридоксина-HCl, 0,1 мг/л тиамина-HCl, 25 г/л сахарозы и 0,6% агара; при 14-часовом световом дне и температуре 23°С. Количество среды в пробирках было ~ 3-5 мл. Образование микроклубней начиналось при истощении питательной среды примерно с 4-й недели. Микроклубни собирали в асептических условиях в стерильные пробирки.

Статистический анализ. Для анализа достоверности различий между группами (по массе микроклубней и скорости прорастания) ввиду их малого размера и независимого распределения использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни [12]. После расчета статистики Манна-Уитни (z) для полученных значений определялись уровни значимости (p) с использованием функции нормального распределения Microsoft Excel. Уровень значимости принимался равным 5% ( $p \le 0.05$ ), т. е. при  $p \le 0.05$  выборки считались достоверно различными.

Проращивание микроклубней в почве. После периода покоя (4 недели при 4°С) микроклубни помещали в 0,5-литровые контрейнеры с универсальным грунтом (Борресурсы, Россия) и проращивали при 16-часовом световом дне, регулярном поливе и температуре 23°С в теплице. Посадка микроклубней в открытый грунт проводилась во второй половине мая в подготовленные стандартные гряды. Полив осуществлялся рассекателем (дождевального типа) два раза в неделю.

## Результаты и обсуждение

Характеристика трансгенных вставок.

Генно-молекулярная вставка 'Avr3a' представляет собой участок гена AVR3a-b RXLR-эффектора *P. infestans*, который расположен в виде комплементарного повтора через интрон 3 гена каталазы 2 клещевины (САТ2). Длина предполагаемой двуцепочечной РНК 294 н. Часть последовательности (92 н.) также комплементарна к участку гена AVR3b *P. ramorum*, что даёт основание предполагать эффект сайленсинга также против этого патогена. Вставка 'Avh246'

является участком гена *Avh246 P. infestans*, дополненного последовательностью элицитинподобного пептида *P. infestans*. Эта последовательность также представляет собой зеркальный повтор, разделённый интроном 3 САТ2. Длина предполагаемой двуцепочечной РНК составляет 200 н. Вставка 'PITG\_03155' кодируется участком гена *PITG\_03155*, консервативного как для *P. infestans* (Genebank XM\_002906196.1), так и для *P. cactorum* (Genebank MT897014.1). Зеркальный повтор разделён интроном 1 гена убиквитина 10 (UBQ10). Длина предполагаемой двуцепочечной РНК составляет 122 н.

Получение микроклубней in vitro.

Для эксперимента мы использовали нетрансгенные растения раннего сорта картофеля Гала, который является сортом немецкой селекции (NORIKA GMBH). А также трансгенные линии картофеля этого сорта, полученные ранее [9]: Avr3a-G4, Avr3a-G7, Avr3a-G9, PITG-G1, Avh-G3, Avh-G6.

Использованная нами методика получения микроклубней является «низко сахарозной» [13,14], то есть микроклубни образуются на той же самой среде, на которой происходит микроразмножение растений. Отличается только количество культуральной среды — для получения микроклубней её используется в 5-6 раз меньше для того, чтобы полностью сформировавшееся в стандартных условиях растение попало в условия нехватки питательных веществ, что и вызывает формирование микроклубней.

Формирование микроклубней началось на 4-ю неделю после микрочеренкования междоузлий растений в пробирки с уменьшенным количеством среды. Микроклубни как трансгенных, так и нетрансгенных растений были полностью сформированы к окончанию 7-й недели культивирования. Сроки формирования микроклубней для различных линий не отличались. На рисунке 1 представлены трансгенные и нетрансгенные растения с формирующимися микроклубнями.

Характеристика микроклубней.

Количество микроклубней, полученных с нетрансгенных растений и с растений трансгенных линий варьировало незначительно (разница была статистически недостоверна) и составляло в среднем  $\sim 1,3$  микроклубня с растения. Все полученные микроклубни были фенотипически однородны, отличаясь только размерами. Микроклубни были вытянутые, веретеновидной формы и тёмного окраса — от зеленовато-коричневого до красно-коричневого с хорошо различимыми, выступающими глазками. На рисунке 2 показаны собранные в асептических условиях микроклубни, помещённые в стерильные микропробирки, в которых они были размещены в холодильнике на  $4^{\circ}$ С на 4 недели (период покоя).



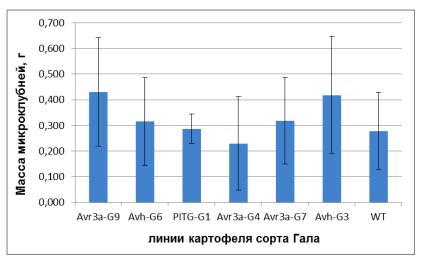


**Рисунок 1** – Микроклубни исходного сорта Гала (слева) и трансгенной линии Avh-G3 (справа) на 6-ю неделю получения микроклубней.



**Рисунок 2** — Микроклубни не модифицированных растений сорта Гала (слева) и двух трансгенных линий (справа).

Размер микроклубней варьировался в широких пределах для всех трансгенных линий и нетрансгенных растений. На рисунке 3 представлена диаграмма, отражающая средний вес полученных микроклубней. Несмотря на то, что микроклубни двух трансгенных линий (Avr3a-G9 и Avh-G3) были в среднем крупнее нетрансгенных микроклубней, тем не менее, эта разница не была статистически достоверной.



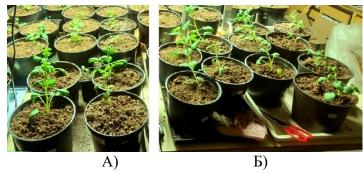
**Рисунок 3** — Усреднённый вес микроклубней различных трансгенных линий и исходного сорта Гала (WT).

Прорастание микроклубней в почве.

После завершения микроклубнями периода покоя [15], нами был проведён эксперимент по проращиванию их в почве в теплице. Мы использовали стандартные контейнеры, объёмом 0,5 л. Универсальный грунт (Борресурсы, Россия) перед посадкой микроклубней переувлажняли, далее полив производили по мере подсыхания верхнего слоя почвы.

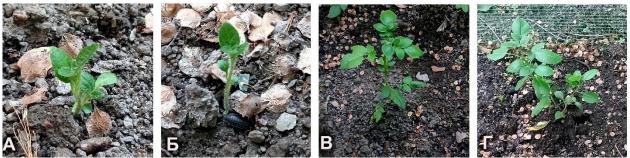
Микроклубни как трансгенных линий, так и нетрансгенных растений начали прорастать на 5-й день после посадки в почву; к 20-му дню прорастание закончилось (рисунок 4). Процент прорастания микроклубней для всех линий и нетрансгенных растений составил более 95%. Следует отметить, что микроклубни всех линий показали разницу в динамике прорастания в зависимости от массы микроклубней — более крупные прорастали быстрее, более мелкие — медленнее. Данный факт находится в полном соответствии с имеющимися на данный момент

наблюдениями о влиянии размера микроклубней на их жизнеспособность [16]. Статистически достоверных отличий в скорости прорастания нетрансгенных и трансгенных микроклубней отмечено не было.



**Рисунок 4** — Растения картофеля, выросшие из микроклубней на 4-ю неделю после посадки в теплице. А) исходный сорт Гала; Б) модифицированные линии.

На следующем этапе исследования микроклубни были высажены в открытый грунт в последней декаде мая, когда почва прогрелась выше 15°С и отступила опасность возвратных заморозков. Полив проводился 2 раза в неделю с помощью стандартного распрыскивателя. Прорастание микроклубней началось на 5-й день после посадки. На рисунке 5 показаны проросшие в открытом грунте растения.



Растения исходного сорта Гала (A) и трансгенной линии (Б) на 15-й день после посадки микроклубней; те же самые растения исходного сорта (В) и трансгенной линии (Г) на 45-й день

Рисунок 5 – Растения, проросшие из микроклубней в открытом грунте.

Прорастание микроклубней завершилось на 25-й день после посадки в почву. Процент прорастания микроклубней в открытом грунте в среднем был ниже, чем в теплице; для одной из линий (Avh-G3) он составил 60%. Обобщённые данные по результатам проведённых экспериментов отражены в таблице 1. Для нетрансгенных растений процент прорастания в открытом грунте составил 78%, сходный уровень прорастания было отмечено у линий Avh-G6 (75%), PITG-G1 (80%), Avr3a-G7 (81%) и Avr3a-G4 (82%). В то же время микроклубни линии Avr3a-G9 продемонстрировали прорастание 100%, а линии Avh-G3 – 60%.

Также необходимо отметить, что скорость прорастания в открытом грунте — единственная из исследованных характеристик, для которой было отмечено статистически достоверное отличие трансгенных линий от нетрансгенных растений. Скорость прорастания для линий Avr3a-G9 и Avh-G3 была в  $\sim$ 1,6 раза выше, чем у нетрансгенных растений. Тем не менее, фенотипических отличий вплоть до 50-го дня после прорастания у растений этих линий зафиксировано не было.

Таблица 1 – Количественные характеристики микроклубней картофеля.

				1 1
Линия картофеля	Масса микроклубней, г.	Скорость	Процент	Процент
		прорастания,	прорастания в	прорастания в
		дни <sup>а</sup>	теплице	открытом грунте
WT	0,278±0,150	16±6	95%	78%
Avr3a-G9	0,431±0,211	10±5*	100%	100%
Avr3a-G4	0,230±0,182	18±5	100%	82%
Avr3a-G7	0,318±0,169	16±7	100%	81%
PITG-G1	0,286±0,057	17±5	100%	80%
Avh-G6	0,315±0,171	15±7	97%	75%
Avh-G3	0,418±0,228	10±6*	95%	60%

Примечание: <sup>а</sup> – скорость прорастания указана для открытого грунта

#### Выводы

Технология HIGS широко используется за рубежом для борьбы с различными видами патогенов растительных организмов. Поскольку концепция метода HIGS предполагает трансформацию трансгенной вставкой, состоящей из небольшой части гена-эффектора патогена, ожидается, что получаемые трансгенные организмы будут иметь минимальные отличия от исходных форм. В данной работе мы проверили это предположение на примере микроклубней трансгенных линий картофеля сорта Гала, которые сравнивали с микроклубнями исходных не модифицированных растений. Такие характеристики микроклубней, как масса, внешний вид, процент прорастания в теплице и в открытом грунте, а также внешний вид проросших растений для всех шести трансгенных линий не отличались от таковых нетрансгенных растений. Однако скорость прорастания в открытом грунте для двух исследованных линий была достоверно выше (в ~1,6 раза), чем у нетрансгенных растений. Поскольку для трёх других линий растений, модифицированных этими же вставками ('Avr3a-b' и 'Avh246') отличий в скорости прорастания не наблюдалось, мы сделали вывод, что данный эффект не связан с собственно последовательностью вставки. Скорее всего, имеет место позиционный эффект, то есть тот случайный участок генома (или участки), куда непосредственно произошло встраивание, может оказаться заблокированным либо же, наоборот, активированным трансгенной вставкой. Таким образом, проведённое исследование на примере микроклубней картофеля подтверждает предположение о том, что при использовании технологии HIGS трансгенные растения имеют минимальные отличия от исходных форм. Следующим этапом исследования будет изучение полученных из микроклубней трансгенных и нетрансгенных растений для выявления отличий, которые могут возникнуть в определённой фазе развития растений.

*Благодарность*. Исследовательская работа выполнена в рамках программы BR21881942 «Разработка биотехнологических подходов для контроля фитопатогенов с целью повышения продуктивности сельскохозяйственных культур» Комитета Науки MBOH PK.

### Список литературы

- 1. Wiik L. Study on Biological and Economic Considerations in the Control of Potato Late Blight and Potato Tuber Blight [Text] / L. Wiik, H. Rosenqvist, E. Liljeroth // J Hortic. -2018.-V.5.-P.226. doi:10.4172/2376-0354.1000226
- 2. Haverkort A.J. Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification [Text] / A.J. Haverkort, P.M. Boonekamp, R. Hutten, E. Jacobsen, L.A.P. Lotz // Potato Res. 2008. V. 51. P. 47-57. doi.org/10.1007/s11540-008-9089-y
- 3. Haq I. Relative efficacy of various fungicides, chemicals and biochemicals against late blight of potato. Pakistan [Text] / I. Haq, A. Rashid, S.A. Khan // Journal of Phytopathology. 2008. V. 21. P. 129-133. doi/pdf/10.5555/20203248787

 $<sup>^*</sup>$  — отличие значений относительно не модифицированных растений (WT) статистически значимо (p  $\leq$  0.05).

- 4 Haldar K. Common infection strategies of pathogenic eukaryotes [Text] / K. Haldar, S. Kamoun, N.L. Hiller, S. Bhattacharje, C. van Ooij // Nature Reviews. Microbiology. 2006. V. 4. P. 922-931. doi: 10.1038/nrmicro1549
- 5 Ghag S.B. Host induced gene silencing, an emerging science to engineer crop resistance against harmful plant pathogens [Text] / S.B. Ghag // Physiological and Molecular Plant Pathology. 2017. V. 100. 242e254.doi: 10.1016/j.pmpp.2017.10.003
- 6 Baum J.A. Progress towards RNAi-mediated insect pest management [Text] / J.A. Baum, J.K. Roberts // Advances in Insect Physiology. 2014. V. 47. P. 249-295. doi: 10.1016/B978-0-12-800197-4.00005-1
- 7 Jin H. Endogenous small RNAs and antibacterial immunity in plants [Text] / H. Jin // FEBS Letters. 2008. V. 582. P. 2679-2684. doi:10.1016/j.febslet.2008.06.053
- 8 Nowara D. HIGS: Host-Induced Gene Silencing in the obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis* [Text] / D. Nowara, A. Gay, C. Lacomme, J. Shaw, C. Ridout, D. Douchkov, G. Hensel, J. Kumlehn, P. Schweizer // The Plant Cell. 2010. V. 22. P. 3130-3141. doi: 10.1105/tpc.110.077040
- 9 Nizkorodova A.S. Obtaining transgenic potato plants for countering *Phytophthora infestans* via "HIGS" method implementation [Text] / A.S. Nizkorodova, R.V. Kryldakov, N.Zh. Karimov, N.S. Polimbetova, B.K. Iskakov // Izdenister Natigeler. 2024 V. 3(103). P. 151-158. In english. doi: 10.37884/3-2024/17
- $10\,\mathrm{Chen}$  X. Plant and animal small RNA communications between cells and organisms [Text] / X. Chen, O. Rechavi // Nat Rev Mol Cell Biol. -2022- V. 23.- P. 185-203. doi:  $10.1038/\mathrm{s}41580\text{-}021\text{-}00425\text{-}y$
- 11 Jahan S.N. Plant-mediated gene silencing restricts growth of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* [Text] / S.N. Jahan, A.K.M. Esman, P. Corcoran, J. Fogelqvist, R.R. Vetukuri, C. Dixelius // Journal of Experimental Botany. 2015. V. 66(9). P. 2785-2794. doi: 10.1093/jxb/erv094
- 12 Iuliano A. Introduction to Biostatistics [Text] / A. Iuliano, and M. Franzese // Data from S. Ranganathan, M. Gribskov, K. Nakai, Ch. Schönbach: Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology, Academic Press, 2019. P. 648-671. doi:10.1016/B978-0-12-809633-8.20353-1
- 13 Mohamed A.E.S. Factors affecting *in vitro* tuberization of potato [Text] / A.ES. Mohamed, N.D. Girgis // Bull Natl Res Cent. 2023. V. 47. P. 80-90. doi: 10.1186/s42269-023-01056-3
- 14 Ranalli P. The Canon of Potato Science: 24. Microtubers [Text] / P. Ranalli // Potato Research. 2007. V. 50(3). P. 301-304. doi: 10.1007/s11540-008-9073-6
- 15 Karjadi A.K. The effect of light and gibberellic acid concentrations on breaking dormancy of potato micro tuber [Text] / A.K. Karjadi, and N. Waluyo // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021. V. 883(1). P. 12011. doi: 10.1088/1755-1315/883/1/012011
- 16 Park W.S. The effect of size and quality of potato microtubers on quality of seed potatoes in the cultivar 'Superior' [Text] / W.S. Park, J. Jeon, H.S. Kim, H. Jin, C. Aswath, H. Joung // Scientia Horticulturae. 2009. V. 120(1). P. 127-129. doi: 10.1016/j.scienta.2008.09.004

#### References

- 1. Wiik L. Study on Biological and Economic Considerations in the Control of Potato Late Blight and Potato Tuber Blight [Text] / L. Wiik, H. Rosenqvist, E. Liljeroth // J Hortic. 2018. V. 5. P. 226. doi:10.4172/2376-0354.1000226
- 2. Haverkort A.J. Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification [Text] / A.J. Haverkort, P.M. Boonekamp, R. Hutten, E. Jacobsen, L.A.P. Lotz // Potato Res. 2008. V. 51. P. 47-57. doi.org/10.1007/s11540-008-9089-y
- 3. Haq I. Relative efficacy of various fungicides, chemicals and biochemicals against late blight of potato. Pakistan [Text] / I. Haq, A. Rashid, S.A. Khan // Journal of Phytopathology. 2008. V. 21. P. 129-133. doi/pdf/10.5555/20203248787

- 4 Haldar K. Common infection strategies of pathogenic eukaryotes [Text] / K. Haldar, S. Kamoun, N.L. Hiller, S. Bhattacharje, C. van Ooij // Nature Reviews. Microbiology. 2006. V. 4. P. 922-931. doi: 10.1038/nrmicro1549
- 5 Ghag S.B. Host induced gene silencing, an emerging science to engineer crop resistance against harmful plant pathogens [Text] / S.B. Ghag // Physiological and Molecular Plant Pathology.  $-2017.-V.\ 100.-242e254.doi:\ 10.1016/j.pmpp.2017.10.003$
- 6 Baum J.A. Progress towards RNAi-mediated insect pest management [Text] / J.A. Baum, J.K. Roberts // Advances in Insect Physiology. 2014. V. 47. P. 249-295. doi: 10.1016/B978-0-12-800197-4.00005-1
- 7 Jin H. Endogenous small RNAs and antibacterial immunity in plants [Text] / H. Jin // FEBS Letters. 2008. V. 582. P. 2679-2684. doi:10.1016/j.febslet.2008.06.053
- 8 Nowara D. HIGS: Host-Induced Gene Silencing in the obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis* [Text] / D. Nowara, A. Gay, C. Lacomme, J. Shaw, C. Ridout, D. Douchkov, G. Hensel, J. Kumlehn, P. Schweizer // The Plant Cell. 2010. V. 22. P. 3130-3141. doi: 10.1105/tpc.110.077040
- 9 Nizkorodova A.S. Obtaining transgenic potato plants for countering *Phytophthora infestans* via "HIGS" method implementation [Text] / A.S. Nizkorodova, R.V. Kryldakov, N.Zh. Karimov, N.S. Polimbetova, B.K. Iskakov // Izdenister Natigeler. 2024 V. 3(103). P. 151-158. In english. doi: 10.37884/3-2024/17
- 10 Chen X. Plant and animal small RNA communications between cells and organisms [Text] / X. Chen, O. Rechavi // Nat Rev Mol Cell Biol. -2022- V. 23.- P. 185-203. doi: 10.1038/s41580-021-00425-y
- 11 Jahan S.N. Plant-mediated gene silencing restricts growth of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* [Text] / S.N. Jahan, A.K.M. Esman, P. Corcoran, J. Fogelqvist, R.R. Vetukuri, C. Dixelius // Journal of Experimental Botany. 2015. V. 66(9). P. 2785-2794. doi: 10.1093/jxb/erv094
- 12 Iuliano A. Introduction to Biostatistics [Text] / A. Iuliano, and M. Franzese // Data from S. Ranganathan, M. Gribskov, K. Nakai, Ch. Schönbach: Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology, Academic Press, 2019. P. 648-671. doi:10.1016/B978-0-12-809633-8.20353-1
- 13 Mohamed A.E.S. Factors affecting *in vitro* tuberization of potato [Text] / A.ES. Mohamed, N.D. Girgis // Bull Natl Res Cent. 2023. V. 47. P. 80-90. doi: 10.1186/s42269-023-01056-3
- 14 Ranalli P. The Canon of Potato Science: 24. Microtubers [Text] / P. Ranalli // Potato Research. 2007. V. 50(3). P. 301-304. doi: 10.1007/s11540-008-9073-6
- 15 Karjadi A.K. The effect of light and gibberellic acid concentrations on breaking dormancy of potato micro tuber [Text] / A.K. Karjadi, and N. Waluyo // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021. V. 883(1). P. 12011. doi: 10.1088/1755-1315/883/1/012011
- 16 Park W.S. The effect of size and quality of potato microtubers on quality of seed potatoes in the cultivar 'Superior' [Text] / W.S. Park, J. Jeon, H.S. Kim, H. Jin, C. Aswath, H. Joung // Scientia Horticulturae. 2009. V. 120(1). P. 127-129. doi: 10.1016/j.scienta.2008.09.004

# А.С. Низкородова $^{*1}$ , Р.В. Крылдаков $^{1}$ , Н.Ж. Каримов $^{1}$ , Н.С. Полимбетова $^{1}$ , Б.К. Искаков $^{1}$

<sup>1</sup> РМК «Молекулалық биология және биохимия институты М.А. Айтхожин атындағы», Алматы, Қазақстан, cool.niz@yandex.ru

# КАРТОП СОРТТЫ ГАЛА ТРАНСГЕНДІЛІК СҮРТТЕРДІҢ МИКРОТУБЕРЛЕРІНІҢ САЛЫСТЫРМАЛЫ СИПАТТАМАСЫ

#### Андатпа

Микротуберлер картоп тұқымын өндіру технологиясында маңызды рөл атқарады, өйткені олардың мөлшері мен салмағы аз болғандықтан сақтауда, тасымалдауда және механикаландыруда үлкен артықшылықтар бар. Стерильді жағдайда микротуберлерді өндіру сау тұқымдық материал алудың жақсы тәсілі болып табылады. Бұл жұмыста біз Гала

сортының (NORIKA GMBH, Германия) картоп микротуберлеріне және осы сорттың негізінде алынған бірқатар трансгенді линияларға салыстырмалы талдау жүргіздік. Трансгендік өсімдіктер бұрын картоп пен қызанақ өсімдіктерінің Phytophthora infestans қоздырғышын бақылау үшін HIGS (host-induced gene silencing) әдісін пайдалану бойынша зерттеудің бөлігі ретінде алынған. HIGS әдісін жүзеге асыру трансгенді өсімдіктердің қысқа интерференциялық РНҚ-ны (siRNA) экспрессиялауына әкеледі, олар мұндай өсімдіктер патогенді жұқтырған кезде соңғысында оның эффекторлық ақуыздарының гендерінің тынығуын тудырады, бұл өсімдікте патогендік организмнің өнуіне және көбеюіне жол бермейді. Бұл әдістің негізі мақсатты ақуыздарды кодтамайтын салыстырмалы түрде қысқа трансгенді кассеталары бар өсімдіктерді модификациялау болып табылады. Сондықтан мұндай трансгенді өсімдіктердің бастапқы сортты өсімдіктерден фенотиптік және физиологиялық айырмашылығы болмауы керек деп күтілуде. Біз модификацияланбаған өсімдіктердің микротуберлерін және трансгенді кірістірудің үш түрін тасымалдайтын трансгенді өсімдіктердің алты желісін алдық. Алынған микротуберлердің салмағы, тыныштық кезеңі, сыртқы түрі, топырақтағы өну жылдамдығы және пайызы сияқты қасиеттерін салыстырдық. Алынған мәліметтер топырақтағы өну жылдамдығынан басқа барлық зерттелетін қасиеттер бойынша трансгенді және трансгенді емес микротуберлер арасында статистикалық маңызды айырмашылықтардың жоқтығын көрсетті. Зерттелген алты трансгендік линияның екеуі ашық топырақта өну жылдамдығының  $\sim 1,6$  есе артқанын көрсетті.

*Негізгі сөздер:* РНК-интерференция, *Phytophthora infestans*, Host Induced Gene Silencing, siRNA, трансгенді өсімдіктер, *Avr3a*, *Avh246*, *PITG\_03155*.

A.S. Nizkorodova\*1, R.V. Kryldakov¹, N.Zh. Karimov¹, N.S. Polimbetova¹, B.K. Iskakov¹

<sup>1</sup> RSE "Institute of Molecular Biology and Biochemistry named after M.A. Aitkhozhin",

Almaty, Kazakhstan, cool.niz@yandex.ru

# COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF MICROTUBERS OF POTATO VARIETY GALA TRANSGENIC LINES

#### Abstract

Microtubers play an important role in seed potato production technology, as they have great advantages in storage, transportation and mechanization due to their small size and weight. Production of microtubers under sterile conditions is a good way to produce healthy seed material. In this work, we carried out a comparative analysis of potato microtubers of the Gala variety (NORIKA GMBH, Germany) and a number of transgenic lines obtained on the basis of this variety. Transgenic plants were previously obtained as part of a study on the use of the HIGS (host-induced gene silencing) approach to control the potato and tomato plant pathogen Phytophthora infestans. The implementation of the HIGS method leads to expression of short interfering RNAs (siRNA) in the transgenic plants. Such plants when infected with a pathogen cause silencing of the pathogen's genes of its effector, which prevents germination and reproduction of the pathogenic organism in the plant. The basis of this method is modification of plants with relatively short transgenic cassettes that do not encode target proteins. Therefore, it is expected that such transgenic plants should not have phenotypic and physiological differences from plants of the original variety. We obtained microtubers of non-modified plants and six lines of transgenic plants carrying three types of transgenic inserts. We compared such properties of the obtained microtubers as weight, dormancy period, appearance, rate and percentage of germination in soil. The obtained data showed the absence of statistically significant differences between transgenic and non-transgenic microtubers for all studied properties, except for the rate of germination in soil. Two of six studied transgenic lines showed an increase in the germination rate in open ground by  $\sim 1.6$  times.

*Key words:* RNA interference, *Phytophthora infestans*, Host Induced Gene Silencing, siRNA, transgenic plants, *Avr3a*, *Avh246*, *PITG\_03155*.

## Вклад авторов:

Низкородова А.С. – концептуализация, исследование, методология

Крылдаков Р.В. – ресурсы, получение финансирования Каримов Н.Ж. – исследование Полимбетова Н.С. – написание - рецензирование и редактирование Искаков Б.К. – контроль, администрирование проектов

МРНТИ 68.37.13

**DOI** https://doi.org/10.37884/3-2025/15

А.М.Рысбекова\*, З. Б.Бекназарова, Р.Р.Фазылбеков, М. Д. Болтаев, А.П.Никоноров

Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений имени Ж. Жиембаева, Алматы, A30M0H6, Казахстан, rysbekova949r@gmail.com, maliktaishikov777@gmail.com, fazylbekov@gmail.com, aniko.inbox@gmail.com, zibash\_bek@mail.ru, boltayevmarat81@gmail.com

# КАПСУЛИРОВАННОЕ ВНЕСЕНИЕ ЭНТОМОФАГОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БПЛА: ПОДХОД К БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ

#### Аннотация

Современное сельское хозяйство переживает переход к устойчивым технологиям, подразумевающим сокращение применения химических пестицидов. Биологический контроль с использованием энтомофагов — экологичная альтернатива, однако его широкое внедрение ограничивается трудоёмкостью ручного распределения и труднодоступностью ряда угодий. В работе представлен разработанный аппаратно-программный комплекс BioDrop — навесное устройство для беспилотных летательных аппаратов (БПЛА), обеспечивающее точное распространение энтомофагов в биоразлагаемых PLA-капсулах. Описаны методология быстрого прототипирования (3D-моделирование, FDM-печать), архитектура управления на базе Raspberry Pi  $\rightarrow$ ESP32 с GPS/ГЛОНАСС-навигацией и Android-приложением, а также лабораторные и полевые испытания. Получены 100 % выход имаго *Trichogramma* spp. В датчике при температуре +30 °C за 6 ч и <1 м погрешности выброса капсул при ветре до 8 м/с на высоте 3 м. Себестоимость капсулы — 36 тг/шт. Результаты подтверждают эффективность автоматизированного распространения энтомофагов в полевых условиях.

образом, разработанный аппаратно-программный Таким комплекс BioDrop высокую эффективность и практическую продемонстрировал применимость автоматизированного распространения энтомофагов в полевых условиях. Использование PLA-капсул, точная навигация и стабильная работа устройства при различных погодных условиях подтверждают его потенциал как устойчивой и экономически выгодной альтернативы химическим методам защиты растений. Полученные результаты — 100 % выход имаго Trichogramma spp., минимальная погрешность выброса и низкая себестоимость капсул — свидетельствуют о перспективности технологии для масштабного внедрения в системы биологического земледелия.

*Ключевые слова:* энтомофаги, биологическая защита растений, беспилотные летательные аппараты, PLA-капсулы, прецизионное внесение, аппаратно-программный комплекс, биологический контроль, устройство, программное обеспечение, BioDrop

#### Введение

Сельское хозяйство является одной из ключевых отраслей экономики многих стран, включая Республику Казахстан [1]. Однако успешное ведение аграрной деятельности сопровождается рядом вызовов, среди которых особую угрозу представляют насекомыевредители [2]. Эти мелкие, но чрезвычайно разрушительные организмы способны в