

УДК 634.11:632.3

**ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ КЛОНОВЫХ ПОДВОЕВ ЯБЛОНИ К
БАКТЕРИАЛЬНОМУ ПОРАЖЕНИЮ ПО УРОВНЮ НАКОПЛЕНИЯ В
ТКАНЯХ ПРОДУКТОВ ОКИСЛЕНИЯ ФЕНОЛОВ**

Марина Витальевна Маслова

кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник

marinamaslova2009@mail.ru

Максим Леонидович Дубровский

кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий лабораторией

element68@mail.ru

Мичуринский государственный аграрный университет

г. Мичуринск, Россия

Аннотация. Важная роль среди защитных механизмов растений принадлежит окислительным превращениям фенольных веществ. Воздействие абиотических или биотических повреждающих факторов, приводит к их окислению и полимеризации. В тканях растений накапливаются темноокрашенные продукты необратимого окисления фенолов, которые инактивируя различные ферменты, являются разобщителями процессов дыхания и фосфорилирования как у патогена, так и хозяина, что может привести к их гибели. При инкубировании растительных тканей в условиях *in vitro* происходит диффундирование темноокрашенных продуктов окисленных фенолов в питательную среду. По интенсивности её окрашивания можно судить о степени преобладания процессов окисления над восстановительной фазой, что связано с особенностями реакции растения на какой либо повреждающий фактор. Установлено, что у подвойных форм яблони, стеблевые экспланты которых интенсивно выделяли в питательную среду темноокрашенные продукты окисления фенолов, листья оказались менее

устойчивыми к заражению бактериальной культурой. Отражены результаты изучения устойчивости к смешанной бактериальной инфекции различных генотипов подвойных форм яблони по исследуемому показателю. Выделены ценные по данному признаку формы. В связи с чем, показатель окрашивания среды при инкубировании инфицированных тканей, можно использовать для характеристики их устойчивости к действию исследуемого патогена.

Ключевые слова: подвойные формы яблони, фенольные соединения, бактериальная микробиота.

Важная роль среди защитных механизмов растений принадлежит окислительным превращениям фенольных веществ. Эта реакция на неблагоприятное воздействие носит неспецифичный характер, т. е. не зависит от природы фактора вызывающего его. Один из предполагаемых механизмов таких превращений заключается в том, что воздействие внешних повреждающих факторов как абиотических, так и биотических, приводит к окислению и полимеризации фенольных соединений, включая красные антоцианы, в результате активизации полифенолоксидазы, пероксидазы, а также медьсодержащих ферментов – дифенолоксидазы и тирозиназы [6, 9]. Окисление танинов и полифенолов приводит к образованию хинонов, которые, конденсируются и реагируют с другими фенольными соединениями, аминокислотами и другими веществами, находящимися в клетке, с образованием пигментов неопределенной структуры. В тканях растений накапливаются темноокрашенные продукты необратимого окисления фенолов, которые инактивируя различные ферменты, являются разобщителями процессов дыхания и фосфорилирования как у патогена, так и хозяина, что может привести к их гибели [5, 8].

При инкубировании растительных тканей в условиях *in vitro* происходит диффундирование окисленных фенолов в питательную среду [6, 10]. По интенсивности её окрашивания можно судить о степени преобладания процессов окисления над восстановительной фазой, что связано с особенностями реакции растения на какой либо повреждающий фактор.

Целью работы являлось выявление взаимосвязи показателей уровня накопления продуктов окисления фенолов в тканях подвойных форм яблони, пораженных бактериальной инфекцией, и устойчивости к данному патогену.

Работа выполнена в научно-исследовательской проблемной лаборатории «Биофотоника» ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ. В качестве биологических объектов исследований использовали районированные и перспективные клоновые подвои и гибридную форму 14-1, произрастающие в маточнике конкурсного испытания на территории научно-образовательного центра (НОЦ)

им. В.И. Будаговского.

Эндофитные бактерии выделяли из стеблевых эксплантов подвойных форм яблони. Предварительно проводили их поверхностную стерилизацию путем погружения в 95%-ный этиловый спирт с последующим фламбированием. Затем экспланты помещали в пробирки на твердую картофельно-глюкозную питательную среду [2]. Выделившиеся микроорганизмы вызывали нарушение физиологических процессов в тканях стеблевых эксплантов и их некроз, в результате чего в питательную среду диффундировали продукты необратимого окисления фенолов. Интенсивность окрашивания среды определяли визуально путем бальной оценки: от 0 баллов (неокрашенная среда) до 3 баллов (наиболее темноокрашенная среда) (рис.1). На основании этого судили о степени некротизации тканей и их устойчивости к действию выделившихся микроорганизмов. У форм менее устойчивых к действию повреждающего фактора (в данном случае смешанная бактериальная культура) происходит интенсивное накопление в растительных тканях продуктов необратимого окисления фенолов. Они диффундируют в питательную среду и вызывают её окрашивание. Это свидетельствует о высокой степени некротизации тканей под влиянием бактериальной инфекции.

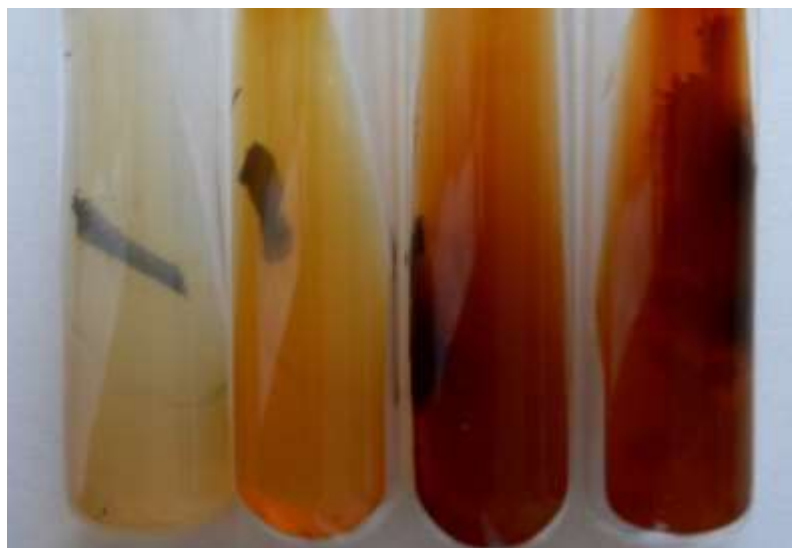


Рисунок 1 – Разная степень окрашивания питательной среды продуктами окисления фенолов.

Для заражения листьев их основание срезали ножницами, обработанными бактериальной суспензией [7], после чего их инкубировали в чашках Петри при

комнатной температуре на свету до проявления симптомов. Бальную оценку степени поражения тканей листа проводили визуально.

0 - поражение отсутствует

1 - поражение очень слабое, единичные некрозные пятна

2 - поражение слабое, до 10% поверхности листа занимает некроз

3 - поражение среднее, до 25% некроз

4 - поражение сильное, до 50% некроз

5 - поражение очень сильное, некроз более 50%.

При статистической обработке и анализе экспериментальных данных использовали стандартные компьютерные программы Microsoft Office Excel.

Тестирование побегов подвойных форм яблони показало наличие во внутренних тканях растений бактериальной микробиоты. Выделившуюся смешанную накопительную культуру бактерии в дальнейшем использовали для заражения листьев [1, 3, 4].

На модельных объектах было выявлено, что у форм, стеблевые экспланты которых интенсивно выделяли в питательную среду темно окрашенные продукты окисления фенолов, листья оказались менее устойчивыми к заражению бактериальной культурой. При этом коэффициент корреляции между данными показателями составил 0,8 (таблица 1).

Таблица 1

Взаимосвязь показателей устойчивости листьев подвойных форм яблони к бактериальной инфекции и уровня накопления продуктов окисления фенолов в пораженных тканях

Формы	Степень поражения стеблевых эксплантов бактериальной микробиотой	Интенсивность окрашивания питательной среды
54-118	1,4±0,23	1,4±0,18
Парадизка Будаговского (ПБ)	1,2±0,23	1,1±0,19
62-396	1,1±0,31	1,1±0,22
14-1	0	1,0±0,29
коэффициент корреляции признаков	r=0,81	

У форм менее устойчивых к действию повреждающего фактора (в данном случае выделенная смешанная бактериальная культура) происходит

интенсивное накопление в растительных тканях продуктов необратимого окисления фенолов. Они диффундируют в питательную среду и вызывают её окрашивание. Это свидетельствует о высокой степени некротизации тканей под влиянием бактериальной инфекции.

При инкубировании стеблевых эксплантов разных форм подвоев яблони в присутствии бактериальной инфекции на твердых питательных средах наблюдается различная степень её окрашивания окисленными фенольными веществами в зависимости от особенностей генотипа (рис.2).

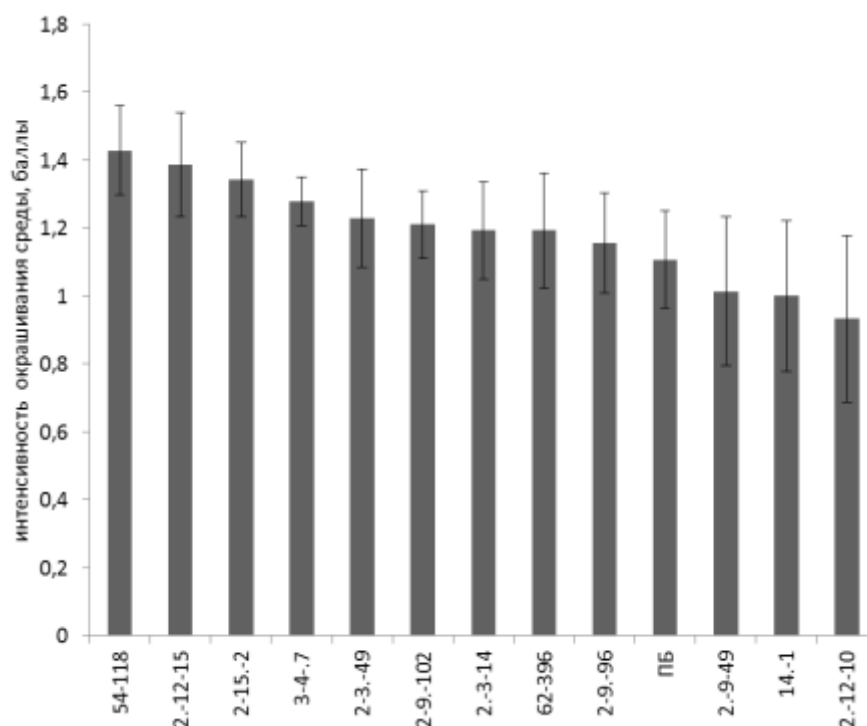


Рисунок 2 – Интенсивность окрашивания среды продуктами окисления фенольных веществ при инкубировании стеблевых эксплантов разных подвойных форм яблони

Наиболее низкий уровень накопления продуктов окисления фенолов (1,0 балл и ниже), а следовательно и высокая степень устойчивости к действию смешанной культуры бактерии было отмечено у форм: 2-9-49, 14-1, 2-12-10. При этом у ПБ, 2-9-96, 62-396, 2-3-14, 2-9-102, 2-3-49, 3-4-7 данный показатель был на уровне среднего значения (1,1 - 1,3 балла). Подвойные формы 2-15-2, 2-12-15, 54-118 характеризовались высокой степенью некротизации тканей, что сопровождалось интенсивным диффундированием темноокрашенных продуктов окисления фенолов в питательную среду более чем 1,3 балла.

В связи со сказанным, интенсивное накопление темноокрашенных продуктов необратимого окисления фенолов в зараженных микроорганизмами тканях растений говорит о высокой степени окислительной нагрузки и как следствие их некротизации. В связи с чем, показатель окрашивания среды при инкубировании инфицированных тканей, можно использовать для характеристики их устойчивости к действию исследуемого патогена.

Список литературы:

1. Маслова М.В. Устойчивость подвойных форм и сортов яблони к токсинам возбудителя бактериального некроза плодовых культур *pseudomonas syringae* van hall // Приоритетные направления развития садоводства (I Потаповские чтения): материалы Национальной научно-практической конференции, посвященной 85-й годовщине со дня рождения профессора, доктора сельскохозяйственных наук, лауреата Государственной премии Потапова Виктора Александровича / отв. ред. Григорьева Л.В. Мичуринск. 2019. С. 122-125.
2. Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений / И. Бёттхер, Т. Ветцель, Ф.В.Древе, Х. Кеглер [и др.]: пер. с нем. К.В. Попковой, В.А. Шмыгли. М.: Агропромиздат, 1987. 224 с.
3. Протективный иммунитет у растений при стрессе на примере плодовых культур / Л.А. Ищенко, М.И. Козаева, М.В. Маслова, К.В. Зайцева // Мичуринский агрономический вестник. 2014. № 2. С. 99-104.
4. Роль эндофитных микроорганизмов в биологической защите яблони от патогенов / М.Л. Дубровский, М.В. Маслова, А.М. Сысоев, А.С. Ильичёв, К.С. Гречушкина // Наука и Образование. 2021. Т. 4. № 2.
5. Рубин Б.А., Арциховская Е.В., Аксенов В.А. Биохимия и физиология иммунитета растений. М.: Высшая школа, 1975. 416 с.
6. Яблонская М. И., Книшкайте А. В., Романова Е. В. Проблема окисления фенолов при клональном микроразмножении // Инновационные процессы в АПК. 2014. С. 86–87.

7. Corba J., Sillerova J., Kudela V. Resistance of apple varieties and selections to *Erwinia amylovora* in the Czech Republic // Plant Protect. Sci. 2008 Vol. 44. N. 3. P. 91 – 96.
8. Loaiza-Velarde J.G., Saltveit M.E. Heat shocks applied either before or after wounding reduce browning of lettuce leaf tissue. Journal of the American Society for Horticultural Science. 2001. Vol. 126. N. 2. P. 227–234.
9. Saengnil K., Lueangprasert K., Uthaibutra J. Control of enzymatic browning of harvested ‘hong huay’ litchi fruit with hot water and oxalic acid dips. ScienceAsia. 2006. Vol. 32. N. 4. P. 345–350.
10. Shimelis D., Bantte K., Feyissa T. Effects of polyvinyl pyrrolidone and activated charcoal to control effect of phenolic oxidation on in vitro culture establishment stage of micropropagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Advances in Crop Science and Technology. 2015. Vol. 3.N. 4. P. 1–4.

UDC 634.11:632.3

**ASSESSMENT OF THE RESISTANCE OF CLONAL APPLE ROOTSTOCKS
TO BACTERIAL DAMAGE BY THE LEVEL OF ACCUMULATION OF
PHENOL OXIDATION PRODUCTS IN TISSUES**

Marina V. Maslova

Candidate of Agricultural Sciences, Senior Researcher

marinamaslova2009@mail.ru

Maxim L. Dubrovsky

Candidate of Agricultural Sciences, Head of the Laboratory

element68@mail.ru

Michurinsk State Agrarian University

Michurinsk, Russia

Annotation. An important role among the protective mechanisms of plants belongs to the oxidative transformations of phenolic substances. Exposure to abiotic

or biotic damaging factors leads to their oxidation and polymerization. Dark-colored products of irreversible oxidation of phenols accumulate in plant tissues, which, by inactivating various enzymes, are disconnectors of respiration and phosphorylation processes in both pathogen and host, which can lead to their death. When incubating plant tissues under in vitro conditions, dark-colored products of oxidized phenols diffuse into the nutrient medium. By the intensity of its staining, it is possible to determine the degree of predominance of oxidation processes over the reducing phase, which is due to the peculiarities of the plant's reaction to any damaging factor. It was found that in the rootstock forms of apple trees, the stem explants of which intensively produced oxidized phenols, the leaves were less resistant to bacterial infection. The results of the study of resistance to mixed bacterial infection of various genotypes of rootstock forms of apple trees according to the investigated indicator are reflected. The forms that are perspective on this basis are highlighted. In this connection, the indicator of staining of the medium during incubation of infected tissues can be used to characterize their resistance to the action of the pathogen under study.

Key words: rootstock forms of apple trees, phenolic substances, bacterial microbiota.

Статья поступила в редакцию 15.11.2021; одобрена после рецензирования 08.12.2021; принята к публикации 24.12.2021.

The article was submitted 15.11.2021; approved after reviewing 08.12.2021; accepted for publication 24.12.2021.