

ЛАЗЕРНАЯ ДИАГНОСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ОЦЕНКЕ ИХ УСТОЙЧИВОСТИ К ТОКСИНАМ БАКТЕРИИ *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS*

М.В. Маслова¹, Е.В. Грошева¹, А.В. Будаговский^{1,2}, О.Н. Будаговская^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия, marinamaslova2009@mail.ru, ekaterina2687@mail.ru, budagovsky@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Федеральный научный центр им И.В. Мичурина, Мичуринск, Россия, budagovsky@mail.ru

Аннотация. Проведена оценка степени поражения и фотосинтетической активности листьев томата после инкубации в растворах культурального фильтрата бактерии *S. michiganensis*. В вариантах с концентрацией метаболитов 10% выявлено значительное увеличение степени поражения тканей листа (на 72,2 балла) и снижение их фотосинтетической активности (на 18,8%) по сравнению с контролем. Данные показатели рекомендовано использовать совместно, так как в ряде случаев стимуляция физиологической активности может наблюдаться у пораженных тканей.

Ключевые слова: томат, *Clavibacter michiganensis* pv. *michiganensis*, функциональная активность, лазерная диагностика

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-512-516

В последнее время резко возросла доля бактериальных болезней томата. Среди них наибольшей вредоносностью характеризуется бактериальный рак, вызываемый *Clavibacter michiganensis* pv. *michiganensis*. (Cmm). Признаками данной болезни является сосудистое поражение при котором увядают отдельные побеги или листья на растениях. На плодах образуются мелкие светлые пятна с темным центром («птичий глаз»), на стебле появляются продольные темные полосы, на срезе видны потемневшие сосуды [Котляров, 2008].

Cmm встречается в России и некоторых зонах Европейского союза. Патоген в основном распространяется зараженными семенами и рассадой. Эпифитотия в теплице может быть вызвана всего лишь несколькими зараженными растениями. Томат является основным растением-хозяином, но в некоторых случаях естественная инфекция также может поражать перец, баклажан, картофель [Корнев, 2009].

Микроорганизмы при культивировании в контролируемых лабораторных условиях способны синтезировать вещества фитогормональной и антибиотической природы, которые диффундируют в питательную среду. Данные соединения находятся в культуральной жидкости и даже при отсутствии живых клеток продуцента способны стимулировать развитие растений и ингибировать фитопатогены. В связи с этим в качестве активного компонента в биопрепаратах используются не только суспензии живых клеток и спор микроорганизмов, но и их метаболиты, экстракты культуральных фильтратов [Бурова, 2012; Киприанова, 2014].

На картофеле обнаружены штаммы Cmm, вызывающие симптомы поражения у томатов и картофеля. Признаки некроза и увядания проявлялись после искусственного заражения растений томата и картофеля. Так как среди Cmm встречаются штаммы, способные поражать картофель, в естественных условиях он может выступать в роли резерватора патогена [Игнатов, 2014].

В сложившихся условиях весьма актуальна разработка методов, позволяющих объективно оценить характер влияния микроорганизмов, ассоциированных с растением для выявления наиболее вредоносных объектов, инициирующих патогенез,

а также микроорганизмов-антагонистов патогенов, стимулирующих рост растений, что позволит в дальнейшем использовать их в качестве агентов биологического контроля болезней.

Важную роль в оценке значимости какого-либо микроорганизма в сельскохозяйственной практике играет определение характера влияния его метаболитов на растения. В связи с тем, что микроорганизмы способны образовывать в жидкой питательной среде комплекс токсических метаболитов, принимающих участие в патогенезе и влияющих на развитие растения-хозяина, а также различных антибиотических, ростовых веществ, витаминов и др., весьма актуальна разработка приемов оценки характера влияния микроорганизмов на растение без применения инфекционных фонов. Использование в качестве селективного агента культурального фильтрата патогенов является также одним из способов ускорения селекционного процесса на устойчивость к болезням. Данный метод позволяет разделить сорта и формы по степени восприимчивости к метаболитам микроорганизмов. Этот способ широко используется исследователями, так как экспериментально установлена корреляция между восприимчивостью к поражению возбудителем болезни и чувствительностью растений к его токсинам [Говоров, 2000; Корня, 2008].

С целью определения характера воздействия выделенной эндофитной бактерии *Stm* на растения томата проводили оценку влияния ее культурального фильтрата на фотосинтезирующие ткани листа визуально и с использованием метода индукции флуоресценции хлорофилла.

Изучение характера воздействия токсических метаболитов патогенной бактерии *Stm* на фотосинтезирующие ткани листа томата проводили с использованием культурального фильтрата, который был получен в результате культивирования бактерии на жидкой питательной среде в течение месяца с последующей стерилизацией. Листья помещали срезами в раствор культурального фильтрата *Stm* с концентрациями 2,5%; 5%; 10%. Контролем служили листья, поставленные в воду. Оценку поражения тканей листа томата проводили по пятибалльной шкале:

0 - поражение отсутствует;

1 - поражение очень слабое, единичные хлорозные или некротические пятна;

2 - поражение слабое, до 10% поверхности листа занимает некроз или до 25% - хлороз;

3 - поражение среднее, до 25% - некроз или до 50% хлороз;

4 - поражение сильное, до 50% - некроз, хлороз более 50%;

5 - поражение очень сильное, некроз более 50%.

Токсическую активность культурального фильтрата рассчитывали по формуле:

$$At = 100 - P_0/P_k * 100\%, \text{ где}$$

At – степень токсичности (в %);

P_0 – состояние листьев в опыте (в баллах);

P_k – состояние листьев в контроле (в баллах).

О функциональном состоянии тканей томата после воздействия метаболитов микроорганизмов судили по их удельной фотосинтетической активности, которую выражали в условных единицах и определяли по динамическим характеристикам кривой Каутского. Оценку параметров медленной индукции флуоресценции хлорофилла проводили с помощью портативного хлорофиллфлуориметра LPT [Патент РФ №2592574, 2016].

При визуальной бальной оценке состояния листьев после 6-суточной инкубации в

растворах культурального фильтрата бактерии *Smm* наиболее значительные симптомы увядания, хлорозности и некрозности листьев выявлены в вариантах с концентрацией метаболитов 10% (средний балл поражения листьев – 2,75 балла). В растворе культурального фильтрата с концентрацией 5% значение этого показателя было вдвое ниже (1,33 балла). Состояние листьев, инкубируемых в растворе метаболитов бактерии *Smm* в концентрации 2,5%, оказалось на уровне контроля и составило 0,83 балла, при этом в контроле степень поражения была оценена на 0,75 балла. (рис. 1).

Параллельно нами проводилась оценка фотосинтетической активности листьев, инкубируемых в растворах токсических метаболитов. По мере экспозиции, начиная с 3 дня после постановки опыта, наблюдали снижение фотосинтетической активности тканей листа томата относительно ее начальных значений по каждому варианту опыта.

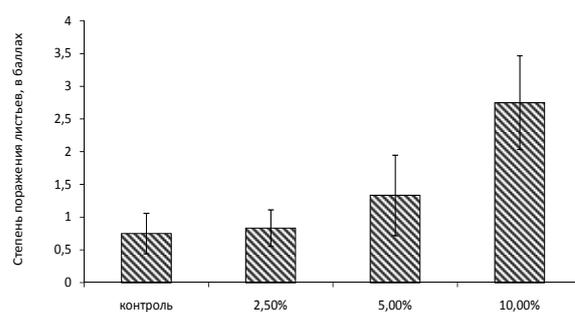


Рис. 1. Степень пораженности листьев после 6-суточной инкубации в растворах разной концентрации метаболитов бактерии *C. michiganensis*.

Было установлено, что даже на 9-е сутки инкубации листьев в растворах метаболитов бактерии *Smm* в концентрации 2,5 и 5% отмечено стимулирующее влияние на фотосинтез исследуемых тканей растений, удельная фотосинтетическая активность составила 0,445 и 0,461 усл. ед. соответственно, при значении этого показателя 0,431 усл. ед. в контроле. Это возможно связано с таким часто распространенным явлением, как активизация фотосинтетической деятельности растительных тканей на начальных этапах патогенеза или при слабой форме течения болезни [Рубин, 1975].

Ингибирование фотосинтетической активности было отмечено при воздействии на ткани листа раствора культурального фильтрата бактерии *Smm* с концентрацией 10%. В данном варианте опыта удельная фотосинтетическая активность составила 0,350 усл. ед. (табл. 1).

Таблица 1.

Влияние растворов метаболитов *C. michiganensis* с различной концентрацией на степень пораженности листьев и их фотосинтетическую активность

Концентрация ФКЖ <i>C. michiganensis</i> , %	Фотосинтетическая активность, усл.ед.
0 (контроль)	0,431±0,016
2,5	0,445±0,018
5,0	0,461±0,023
10,0	0,350±0,023

Использование 10% раствора метаболитов патогенной бактерии *Stm* в качестве селективирующего агента можно рекомендовать для проведения ранжирования сортов и форм томата по степени устойчивости к данному патогену. Параметры медленной индукции флуоресценции хлорофилла служат важным диагностическим признаком не только при оценке биологического эффекта, возникающего после воздействия дестабилизирующих факторов, но и для оценки характера влияния метаболитов микроорганизмов на растение-хозяина.

Диагностику функционального состояния растений по фотосинтетической активности хлорофиллсодержащих тканей необходимо проводить параллельно с оценкой их степени некрозности, так как в ряде случаев стимуляция фотосинтетической активности может наблюдаться у пораженных растительных тканей.

Литература

Бурова Ю.А., Ибрагимова С.А., Ревин В.В. Получение бактериальной суспензии *Pseudomonas aureofaciens* 2006 на мелассе и изучение некоторых ее свойств // Вестник ОГУ. – 2012. – №10 (146). – С. 61-65.

Говоров Д.Н. Совершенствование защиты земляники от вертициллезного увядания: автореф. дис. ... канд. б.н. М., 2000. – 16 с.

Игнатов А.Н. Распространение возбудителей опасных бактериозов растений в российской федерации // Защита картофеля. – 2014. – №2. – С. 53-57.

Киприанова Е.А., Варбанец Л.Д., Шепелевич В.В., Войчук С.И. Противовирусная активность липополисахаридов *Pseudomonas chlororaphis subsp. aureofaciens* // Biotechnol. acta. – 2013. – №2. – С. 15-17.

Котляров В.В. Бактериальные болезни культурных растений. Краснодар: КубГАУ, 2008. – 324 с.

Патент РФ №2592574 на изобретение «Оптический способ оценки функционального состояния растений» / Авторы: Будаговская О.Н., Будаговский А.В., Гончаров С.А. – Заявка № 2014148848 от 03.12.2014. – Оpubл.27.07. – 2016. - Бюл. – №16. Патентовладелец – МичГАУ.

Корнев К.П., Игнатов А.Н., Матвеев Е.В. и др. Раса Р (potato) бактерий *Clavibacter michiganensis sbsp. michiganensis* – новый патоген картофеля // Бактериальные болезни – глобальная проблема современности: матер. Всеросс. науч.-практ. конф.,- Краснодар: КубГАУ, 2009. – С. 139-152.

Рубин Б.А., Арциховская Е.В., Аксенов В.А. Биохимия и физиология иммунитета растений. - М.: Высшая школа, 1975. – 315 с.

Корня Т.М., Игнатова С.А., Бабаянц О.В. Свойства фильтрата культуральной жидкости *Fusarium graminearum Schwabe* как селективного агента в условиях *in vitro* // Біотехнологія. Наука. Освіта. Практика: тези доповідей IV Міжнародної науково-практичної конференції, Дніпропетровськ, 11-13 листопада 2008. Дніпропетровськ. – 2008. – С. 163-164.

**LASER DIAGNOSTICS OF THE FUNCTIONAL STATE
PLANTS OF TOMATO IN THE ESTIMATION OF THEIR STABILITY
TO TOXINS OF BACTERIA CLAVIBACTER MICHIGANENSIS**

M.V. Maslova¹, E.V. Grosheva¹, A.V. Budagovsky^{1,2}, O.N. Bydagovskaya^{1,2}

¹Federal state budgetary educational institution of higher education Michurinsk State Agrarian University, Michurinsk, Russia, *ekaterina2687@mail.ru, arinamaslova2009@mail.ru, budagovsky@mail.ru*

²Federal Scientific Center named after I.V. Michurina, Michurinsk, Russia, *budagovsky@mail.ru*

Abstract. The degree of lesion and photosynthetic activity of tomato leaves was estimated after incubation in solutions of culture filtrate of *C. michiganensis* bacterium. In variants with a metabolite concentration of 10%, a significant increase in the degree of lesion of the leaf tissues (by 72.2 points) and a decrease in their photosynthetic activity (by 18.8%) compared with the control was revealed. These indicators are recommended to be used together, since in some cases stimulation of physiological activity can be observed in affected tissues.

Keywords: *tomato, Clavibacter michiganensis pv. michiganensis, functional activity, laser diagnostics*