РЕАКЦИЯ СПОРОФИТА И МИКРОГАМЕТОФИТА РАСТЕНИЙ СВЕКЛЫ СТОЛОВОЙ НА ЗАРАЖЕНИЕ БАКТЕРИЕЙ *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *APTATA*

Мухина К.С., Ветрова С.А., Козарь Е.Г.

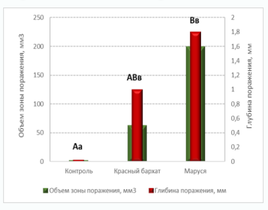
АКТУАЛЬНОСТЬ. В последние годы под воздействием ряда факторов, в том числе потепления климата, на культуре свеклы усиливается вредоносность бактерии ***Pseudomonas syringae* pv. *aptata*** *(Psa)*, вызывающей бактериальную пятнистость листьев. На ранней стадии симптомы бактериоза проявляются на листьях в виде некротических пятен неправильной или круглой формы со светло-коричневым центром и блестящими черными краями. При дальнейшем развитии бактерия, системно поражая сосуды листьев, черешков и стеблей растений, проникает в корнеплод и вызывает побурение сосудистых пучков [1, 2]. В 2019 году в Московской области с корнеплодов коллекционных образцов свеклы столовой была выделена и идентифицирована бактерия *Psa*, вызывающая симптомы сосудистого бактериоза без внешних признаков поражения корнеплодов [3, 4]. Увеличение распространения бактериоза в последние годы на свекле столовой в условиях Московской области несет эпидемиологическую опасность, что актуализирует исследования по разработке методики экспресс-оценки линий свеклы столовой на устойчивость к бактериозу на разных стадиях онтогенеза, в том сисле и на стадии микрогаметофита.

Цель: выявить характер взаимосвязи между реакцией спорофита и микрогаметофита на заражение бактерией *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* сортов свеклы столовой с различной устойчивостью корнеплодов к бактериозу

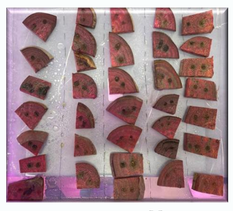
Материал и методы исследований. Фитомониторинг распространения болезней на свекле столовой путем маршрутных обследований посевов и посадок, анализ пораженности корнеплодов до и после хранения и выделение возбудителей проводится на базе лаборатории молекулярно-иммунологических исследований и лаборатории селекции и семеноводства столовых корнеплодов ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» (ФГБНУ ФНЦО) по общепринятым методикам. *Материал*: растения свеклы столовой сортопопуляций Маруся и Красный бархат, коллекционный типовой штамм *Psa 1-21*. Оценку устойчивости растений свеклы столовой к *Psa* проводили в серии независимых лабораторных опытов с использованием различных вариантов заражения (водная суспензия, культуральный фильтрат – КФ, жидкая культура – ЖК) на разных стадиях развития растений. В качестве тест-объектов при искусственной инокуляции использовали корнеплоды, отделенные листья семенных растений и пыльцу двух испытуемых сортов свеклы столовой.

ВОДНАЯ СУСПЕНЗИЯ

При инокуляции высечек корнеплодов анализируемых сортов водной суспензией *Psa* наблюдали симптомы развития бактериоза в виде темно-коричневых или черных вдавленных пятен различной формы, как правило, с четкой границей, с дальнейшим образованием скудного бактериального экссудата на поверхности пораженной ткани. Средний объем зоны поражения дисков корнеплодов у сорта Маруся был в 3,5 раза больше, чем у сорта Красный бархат, который по величине поражения существенно не отличался от контрольного варианта опыта.

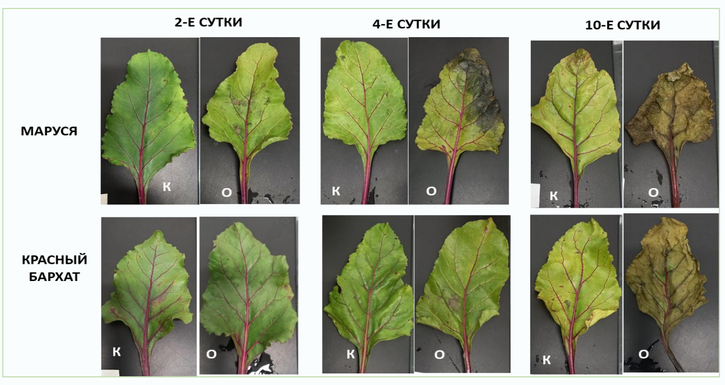


Красный бархат



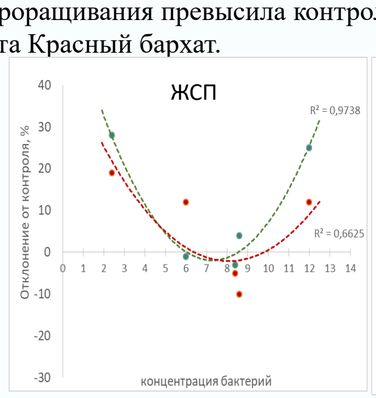
Маруся

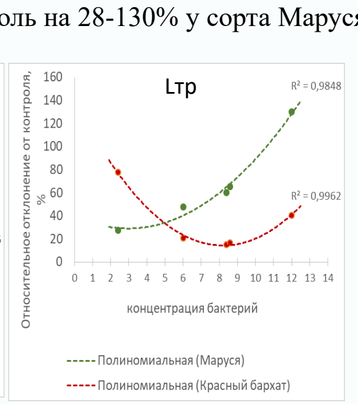
При заражении отделенных листьев путем погружения черешка в бактериальную суспензию у сорта Маруся уже на вторые сутки появились симптомы в виде продолговатых некрозов на центральной жилке, на четвертые сутки - бурые расплывчатые некротические пятна с диффузным хлорозом, занимающие в среднем до 20-30 % всей поверхности листа и частичная потеря тургора от 1 до 3 баллов.



Таким образом, при использовании в качестве селектирующего фактора водной суспензии *Psa* на уровне спорофита (корнеплоды и листья) выбранные сорта Маруся и Красный бархат достоверно отличаются по устойчивости к данному патогену.

Реакцию микрогаметофита на присутствие в питательной среде клеток возбудителя изучали на общепопуляционном уровне в пределах каждого сорта. У обоих сортов отмечена схожая тенденция изменения жизнеспособности в ряду разведений бактериальной суспензии, а именно: резкое повышение числа проросших пыльцевых зерен в вариантах с высокой (исходной) и низкой концентрацией (разведение 2:8) бактериальных клеток в среде, а в диапазоне средних разведений (от 9:1 до 5:5) - ее снижение практически до уровня контрольных значений. При этом стимулирующий эффект в крайних вариантах был более выражен у восприимчивого сорта Маруся, где процент прорастания пыльцы увеличился на 25-28%, тогда как у сорта Красный бархат – на 12-19% по сравнению с контролем. Присутствие в питательной среде *Psa* положительно влияло на скорость роста пыльцевых трубок обоих сортов, длина которых через два часа проращивания превысила контроль на 28-130% у сорта Маруся и на 40-78% у сорта Красный бархат.





ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, по результатам проведенных исследований в условиях *in vitro* на сортах столовой показано, что при ранжировании популяций этой овощной культуры на уровне микрогаметофита по устойчивости к бактериозу, вызываемому *Psa,* в качестве селектирующего агента целесообразно использовать водную суспензию *Psa* в концентрации $2{,}4 \times 10^8$ кл/мл (в опытах разведение 2:8).

Критерием оценки является отношение доли проросшей пыльцы и длины пыльцевых трубок в присутствии клеток бактерии к контрольному варианту (питательная среда без бактерий).

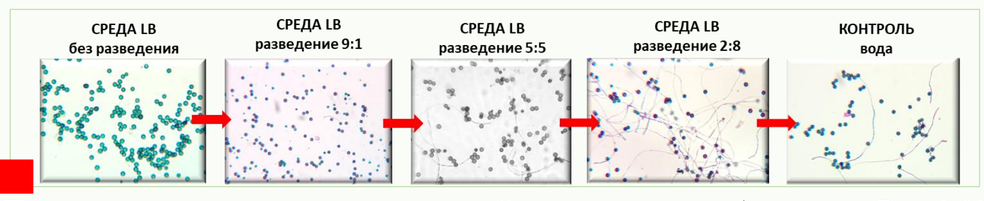
Выявлена обратная взаимосвязь между устойчивостью спорофита к *Psa* и изменением функциональных параметров микрогаметофита сортов свеклы столовой Маруся и Красный бархат под влиянием фитопатогена.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективах разработки методики отбора устойчивых к бактериозу генотипов свеклы столовой по реакции микрогаметофита.

КУЛЬТУРАЛЬНЫЙ ФИЛЬТРАТ

Степень развития симптомов поражения на отделенных листьях сорта Красный бархат, помещенных в культуральный фильтрат, после трехсуточного культивирования штамма *Psa 1-21* в жидкой среде LB, была в 2-7 раз ниже, чем у восприимчивого сорта Маруся.

Предварительная анализ показал, что в неразбавленном виде среда LB оказывает сильное негативное действие на функциональные характеристики пыльцы свеклы столовой, приводя к практически полной стерилизации пыльцевых зерен. По мере ее разведении отрицательное влияние на прорастание пыльцы быстро снижается и становится мало существенным, начиная с разведения 5:5.



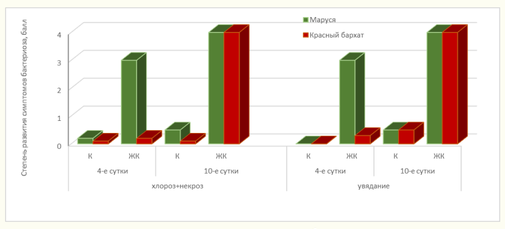
Поэтому активность разных разведений культурального фильтрата *Psa 1-21* оценивали в сравнении с чистым контролем (без добавления LB). В разведении 2:8 культуральный фильтрат оказал положительный эффект на жизнеспособность и длину пыльцевых трубок у восприимчивого сорта Маруся, как и в опыте с водной суспензией (таблица). У сорта Красный бархат при этом разведении отмечали только стимуляцию роста пыльцевых трубок, но эффект относительно контрольного варианта был ниже, чем у сорта Маруся. В меньших разведениях отклонение от контроля у этого сорта было менее существенным, в отличие от сорта Красный бархат, у которого уже в варианте с разведением 2:8 жизнеспособность пыльцы снижалась в три раза, а при разведении 5:5 в девять раз.

Влияние культурального фильтрата штамма *Psa 1-21* на жизнеспособность пыльцы и рост пыльцевых трубок сортов свеклы столовой *in vitro* в зависимости от разведения

Вариант опыта, разведение КФ	Доля проросшей пыльцы (ЖСП)				Средняя длина пыльцевой трубки			
	Маруся		Красный бархат		Маруся		Красный бархат	
	%	отклонение от К, %	%	отклонение от К, %	мкм	отклонение от К, %	мкм	отклонение от К, %
Контроль	9	-	34	-	40	-	67	-
2:8	12	3	11	-24	67	68	84	25
4:6	9	0	6	-28	44	10	55	-18
5:5	7	-2	4	-30	24	-40	46	-31
10:0	1	-8	1	-33	0	-100	0	-100
$НСР_{05}$	3		10		14		13	

ЖИДКАЯ КУЛЬТУРА

При погружении отделенных листьев в ЖК в разведении 2:8 на четвертые сутки степень развития некроза, хлороза и увядания на листьях сорта Красный бархат не превышала 0,5 баллов, тогда как у сорта Маруся наблюдали усыхание и потемнение большей части листовой пластинки (до 75% поверхности) и значительную потерю тургора.



Жидкая культура *Psa 1-21* в выбранных концентрациях оказывала отрицательное влияние на функциональные характеристики пыльцы двух различающихся по устойчивости сортов (таблица). Негативный эффект был более выражен у сорта Красный бархат, у которого при добавлении в питательную среду жидкой культуры уже при разведении 2:8 наблюдали резкое снижение жизнеспособности пыльцы относительно контроля – на 96%, и полное отсутствие прорастания при увеличении концентрации ЖК. У сорта Маруся число проросших пыльцевых зерен в разведениях 2:8 и 5:5 уменьшилось несущественно, по сравнению с контрольным вариантом опыта, но в разведении 9:1 пыльцевые зерна также не прорастали. Ингибирование роста пыльцевых трубок при разведении 2:8 у обоих сортов составило более 50% относительно контроля, тогда как при разведении 5:5 у восприимчивого сорта Маруся отмечался рост трубок в отличии от устойчивого сорта Красный бархат.

Влияние жидкой культуры типового штамма *Psa 1-21* на жизнеспособность пыльцы и рост пыльцевых трубок сортов свеклы столовой *in vitro* в зависимости от разведения

Вариант опыта, разведение ЖК	Доля проросшей пыльцы (ЖСП)				Средняя длина пыльцевой трубки			
	Маруся		Красный бархат		Маруся		Красный бархат	
	%	отклонение от К, %	%	отклонение от К, %	мкм	отклонение от К, %	мкм	отклонение от К, %
Контроль	6	-	26	-	46	-	82	-
2:8	3	-3	1	-25	20	-57	40	-51
5:5	5	-1	0	-26	20	-57	0	-100
9:1	0	-6	0	-26	0	-100	0	-100
$НСР_{05}$	2,1		10,2		28,0		20,1	

Литература

1. Morris C, Glaux C, Latour X, Gardan L, Samson R, Pitrat M. The relationship of host range, physiology, and genotype to virulence on cantaloupe in *Pseudomonas syringae* from cantaloupe blight epidemics in France. *Phytopathology*. 2000;90(6):636–646. DOI:10.1094/phyto.2000.90.6.636
2. Janse J.D. A leaf spot disease of sugar beet, caused by *Pseudomonas syringae. Gewasbescherming*. 1979;(10):121–125.
3. Игнатов А.Н., Панычева Ю.С., Воронина М.В., Гресис В.О., Пакина Е.Н. Ожог листьев и гниль корнеплодов сахарной свёклы, вызванные *Pseudomonas syringae pv. aptata* в Российской Федерации. *Сахар*. 2018;(7):14-17. https://elibrary.ru/xwfgmx
4. Ветрова С. А., Козарь Е. Г., Мухина К. С., Заячковский В. А. Патогенность московского изолята *Pseudomonas syringae pv. aptata* в отношении культуры свеклы столовой. *Достижения науки и техники АПК.* 2024;(10):63-70. DOI:10.53859/02352451_2024_38_10_0.