СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ / AGRICULTURAL SCIENCES

УДК 634.13:581.143.6.632.35

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* СОРТОВОГО МАТЕРИАЛА ГРУШИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ЕГО ПОРАЖЕНИЯ НЕКРОЗОМ

EFFICIENCY OF INTRODUCTION IN CULTURE OF *IN VITRO* OF HIGH–QUALITY MATERIAL OF THE PEAR IN DEPENDING ON EXTENT OF HIS DEFEAT BY THE NECROSIS

©Зайцева К. В.
канд. с.–х. наук
Всероссийский научно–исследовательский институт генетики и селекции плодовых растений им. И. В. Мичурина
г. Мичуринск, Россия
©Zaytseva K.
PhD, Michurin All–Russian Research Institute for Genetics and Breeding of Fruit Crops
Michurinsk, Russia
©Янковская М. Б.
Всероссийский научно–исследовательский институт генетики и селекции плодовых растений им. И. В.Мичурина
г. Мичуринск, Россия, mary.janck@yandex.ru
©Yankovskaya M.
Michurin All–Russian Research Institute for Genetics and Breeding of Fruit Crops
Michurinsk, Russia, mary.janck@yandex.ru

Аннотация. Проводили тестирование побегов различных сортов груши на наличие эндофитной микробиоты, а также учет степени поражения некрозом исследуемых растений. Выявлена индивидуальная реакция генотипа растений груши и зависимость введения сортового материала в условия *in vitro* от степени адаптации к биотическим стресс–факторам. Из побегов растений тестировалась так же смешанная микробиота (одновременный выход на среду бактерии и гриба), что свидетельствует об адаптации грибов к бактериальным токсинам. Однако, в силу антагонистического взаимодействия (двойной индукции) грибов и бактерии, усиливается стрессорная нагрузка на растительный организм. В заключении авторы приходят к выводу, что выявлена прямая зависимость эффективности введения сортового материала груши в условия изолированной культуры не только от степени поражения бактериальными некрозами, но и от частоты тестирования бактерии в лабораторных условиях, а также показателя отрицательного теста, который отражает степень адаптации растения к биотическим стресс–факторам.

Abstract. Different pear varieties shoots were tested for the presence of endophytic microbiota and necrosis extent of the plants under study. Individual response of pear plant genotype and

dependence for introduction of varietal material *in vitro* conditions on the degree of adaptation to biotic stress factors was.

Tested shoots of different pear varieties for the presence of endophytic microbiota, as well as the extent of damage the necrosis of the plants under study. Identified the individual response of the genotype of plants pears, the dependence of the introduction of varietal material in in vitro conditions on the degree of adaptation to biotic stress factors.

Conducted testing different varieties of pear in sprouts the existence endophytic microbiota and the incidence of necrosis of the studied plants. Individual response identified genotype of plants pear, the dependence of the introduction of long material in in vitro conditions the degree of adaptation to biotic stress factors.

Held testing of escapes of various grades of a pear for existence of an endofitny microbiota, and also the accounting of extent of defeat by a necrosis of the studied plants. Individual reaction of a genotype of plants of a pear, dependence of introduction of high–quality material to in vitro conditions on extent of adaptation to biotic a stress factors is revealed.

Ключевые слова: биотический стресс, эндофитная микробиота, некроз, адаптация, *in vitro*.

Keywords: biotic stress, endophytic microbiota, necrosis, adaptation, *in vitro*.

Нестабильность погодных условий, наблюдающаяся в последнее время, приводит к энерго– и иммунодефициту у плодовых растений, что вызывает активизацию патогенных микроорганизмов (биотический стресс у растений). Мониторинг фитосанитарного состояния насаждений груши показал ослабление болезней, вызываемых биотрофными и гемибиотрофными патогенами: мучнистая роса, парша, буроватость, септориоз груши и др. В то же время активизировалась бактерия из рода *Pseudomonas,* способная поражать ослабленные растения и приводить к некрозам и усыханию [1].

Известно, что бактерия является продуцентом ряда биологически активных веществ (аминокислот, ферментов, органических кислот, витаминов, токсинов, антибиотиков), ее можно использовать в целях биологической защиты от грибов [1–4]. Однако, при неблагоприятных погодных условиях (аномально теплые температуры зимнего периода, низкие температуры воздуха на фоне отсутствия снежного покрова, недостаточное количество осадков на фоне высоких температур, переувлажнение) бактерии могут переходить от симбиотического к паразитическому типу взаимодействия, являясь причиной загнивания, некрозов, ожогов, разрастания тканей и др. [5–8].

Нами проводилось тестирование побегов различных сортов груши на наличие эндофитной микробиоты, а также учет степени их поражения некрозом листьев.

Так, у сорта Аллегро она составила — 48,3%, у сорта Скороспелка из Мичуринска — 26,0% и у сорта Ириста — 16,6%.

Исследование данных сортов в лабораторных условиях показало, что видовой состав эндофитной (внутренней) микробиоты побегов представлен бактерией *Pseudomonas syringae van Hall* и некротрофными грибами, главным образом из родов *Fusarium, Alternaria, Penicillium* входящие в состав смешанной инфекции.

Из побегов растений тестировалась так же смешанная микробиота (одновременный выход на среду бактерии и гриба), что свидетельствует об адаптации грибов к бактериальным токсинам. Однако, в силу антагонистического взаимодействия (двойной индукции) грибов и бактерии, усиливается стрессорная нагрузка на растительный организм.

Важным показателем состояния растения является также процент отрицательного теста на микробиоту. Он отражает степень выраженности паранекроза (уровень окислительного стресса) у растения, переходящего под воздействием того или иного фактора (абиотического или биотического характера) в некроз [9, 10]. Накопление продуктов окисления фенолов — хинонов, ведет к гибели как микробиоты, так и клеток растения–хозяина. Чем выше процент отрицательного теста, отражающего уровень окислительного стресса у растительного организма, тем ниже его адаптационная способность.

Для разработки метода ускоренной диагностики устойчивости растений к бактериальным токсинам в лабораторных условиях необходимо иметь стерильную культуру сортов и форм груши.

Ведение груши в условия *in vitro* проводили в 20-х числах апреля 2015 года. Известно, что экспланты, изолированные в фазу выхода из покоя наименее подвержены отрицательным явлениям, связанным с процессами окисления и поликонденсации фенольных соединений. В это время года они наиболее хорошо переносят стерилизацию и быстро начинают развиваться [11]. Использовали стандартную методику для одревесневших однолетних побегов. Черенки, предварительно вымытые с моющим средством, прополаскивали сначала под струей воды, затем в дистиллированной воде. Почки, очищенные от покровных чешуй, обрабатывали 0,1% раствором сулемы, 35–45 сек, с последующей 4-кратной промывкой в стерильной воде.

Учет стерильности выявил сортовую специфичность, поскольку при размножении в культуре *in vitro* индивидуальная реакция генотипа растения проявляется сильнее, чем при традиционных способах размножения.

Доля зараженного грибами и бактериями материала составила у сорта Аллегро — 44,4%, Скороспелка — 36,4%, Ириста — 33,3%. Выход стерильных жизнеспособных эксплантов составил: у сорта Аллегро — 23,3%, у сорта Скороспелка — 21,2 %, у сорта Ириста — 54,5%. Несмотря на то, что данные показатели у сортов Аллегро и Скороспелка близки по значению, экспланты сорта Аллегро полноценными побегами не стали и постепенно некрозировали. Микропобеги сорта Скороспелка на протяжении 10 пассажей развивались слабо и, среднее число новообразовавшихся побегов на эксплант, составило 1,9. Только у сорта Ириста коэффициент размножения в 10-м пассаже составил от 4,5±0,5 до 9,6±1,1 побега на эксплант.

Следует отметить, что формы с наибольшим запасом адаптации характеризуются достаточно высокой частотой тестирования бактерии на фоне снижения показателей развития грибной и смешанной микробиоты, а также процента отрицательных тестов.

Так, сорт Ириста характеризовался наиболее высокой частотой тестирования бактерии (95,0%) и низким показателем отрицательного теста (5,0%).

У сорта Скороспелка из Мичуринска показатель бактериальной микробиоты был несколько меньше (74,5%), показатель отрицательного теста был в 5 раз больше, чем у сорта Ириста и составил 25,5%.

Наименьшая активность бактерии была отмечена у сорта Аллегро (54,9%), в то время как показатель отрицательного теста составил 45,1%.

Таким образом, выявлена прямая зависимость эффективности введения сортового материала груши в условия изолированной культуры не только от степени поражения бактериальными некрозами, но и от частоты тестирования бактерии в лабораторных условиях, а также показателя отрицательного теста, который отражает степень адаптации растения к биотическим стресс–факторам.

Список литературы:

1. Андросов Г. К., Антипов Л. И. Микотоксины энтомоцидного действия // Защита растений в условиях реформирования Агропромышленного комплекса: экономика эффективность экологичность (Санкт–Петербург, декабрь 1995 г.): тез. докл. СПб, 1995. С. 279.
2. Боронин А. М., Гвоздяк Р. И., Перепнихайка В. И. и др. Плазмиды резистентности *Pseudomonas syringae* // Изв. АН СССР (сер. Биол.). 1989. 6. С. 916-921.
3. Гвоздяк Р. И., Яковлева Л. И., Щербина Т. Н., Огородник Л. Е. Сорные растения как экологическая ниша фитопатогенных бактерий // Фітопатогенні бактерії. Фітонцидология. Аллелопатія. Тези доповідей межд.конф. 4–6 жовтня 2005г. Київ, 2005. С.23.
4. Горленко М. В. Бактериальные болезни растений. М.: Высшая школа, 1966. 292 с.
5. Израильский В. П., Шкляр С. Н., Ягудин В. П. и др. Бактериальные болезни растений // Под ред. В. П. Израильского. М.: Колос, 1979. 288 с.
6. Ищенко Л. А. Усиление поражаемости плодовых и ягодных культур под влиянием заморозков // Научные достижения — производству: тез. докл. к науч. конф… М., 1987. С. 7–8.
7. Ищенко Л. А., Чеснокова И. Н., Козаева М. И. Адаптивная саморегуляция плодовых культур к патогенам при наличии холодовых стрессов у хозяев // Материалы I-го съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС). М., 1994.
8. Мордухова Е. А., Кочетков В. В., Поликарпова Ф. Я., Боронин А. М. Использование ризосферных псевдомонад для стимуляции корнеобразования и защиты черенков плодовых культур // Защита растений в условиях реформирования Агропромышленного комплекса: экономика эффективность экологичность: тез. докл. СПб., 1995. С. 346.
9. Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Аксенов В. А. Биохимия и физиология иммунитета растений. М.: Высшая школа, 1975.
10. Фомичев Ю. К. Псевдомонады — объект генетических и селекционных исследований // IVсъезд ВОГиС им. Вавилова: Тез. симпозиальных докл. М., 1983. С. 100–101.
11. Высоцкий В. А. Клональное микроразмножение плодовых растений и декоративных кустарников // Микроразмножение и оздоровление растений в промышленном плодоводстве и цветоводстве: сб. научн. тр. ВНИИС им. И. В. Мичурина. Мичуринск, 1989. С. 3–8.

References:

1. Androsov G. K., Antipov L. I. Mikotoksiny entomotsidnogo deistviya. Zashchita rastenii v usloviyakh reformirovaniya Agropromyshlennogo kompleksa: ekonomika effektivnost' ekologichnost': Tez.dokl. (Sankt–Peterburg, dekabr' 1995 g.). Sankt–Peterburg, 1995. P. 279.
2. Boronin A. M., Gvozdyak R. I., Perepnikhaika V. I. i dr. Plazmidy rezistentnosti Pseudomonas syringae. Izv. AN SSSR (ser. Biol.). 1989. 6. P. 916–921.
3. Gvozdyak R. I., Yakovleva L. I., Shcherbina T. N., Ogorodnik L. E. Sornye rasteniya kak ekologicheskaya nisha fitopatogennykh bakterii. Fitopatogenni bakterii. Fitontsidologiya. Allelopatiya. Tezi dopovidei mezhd.konf. 4-6 zhovtnya 2005g. Kiiv, 2005. P. 23.
4. Gorlenko M. V. Bakterial'nye bolezni rastenii. Moscow, Vysshaya shkola, 1966, 292 p.
5. Izrailskii V. P., Shklyar S. N., Yagudin V. P. et al. Bakterial'nye bolezni rastenii. Pod red. V. P. Izrailskogo. Moscow, Kolos, 1979, 288 p.
6. Ishchenko L. A. Usilenie porazhaemosti plodovykh i yagodnykh kul'tur pod vliyaniem zamorozkov. Nauchnye dostizheniya — proizvodstvu: tez.dokl. k nauch konf… Moscow, 1987, pp. 7–8.

7. Ishchenko L. A., Chesnokova I. N., Kozaeva M. I. Adaptivnaya samoregulyatsiya plodovykh kul'tur k patogenam pri nalichii kholodovykh stressov u khozyaev. Materialy I-go s"ezda Vavilovskogo obshchestva genetikov i selektsionerov (VOGiS). Moscow, 1994.

8. Mordukhova E. A., Kochetkov V. V., Polikarpova F. Ya., Boronin A. M. Ispol'zovanie rizosfernykh psevdomonad dlya stimulyatsii korneobrazovaniya i zashchity cherenkov plodovykh kul'tur. Zashchita rastenii v usloviyakh reformirovaniya Agropromyshlennogo kompleksa: ekonomika effektivnost' ekologichnost': tez. dokl. SPb., 1995, 346 p.

9. Rubin B. A., Artsikhovskaya E. V., Aksenov V. A. Biokhimiya i fiziologiya immuniteta rastenii. Moscow, Vysshaya shkola, 1975.

10. Fomichev Yu. K. Psevdomonady — ob"ekt geneticheskikh i selektsionnykh issledovanii. IVs"ezd VOGiS im. Vavilova: tez. simpozial'nykh dokl. Moscow, 1983-2, pp. 100–101.

11. Vysotskii V. A. Klonal'noe mikrorazmnozhenie plodovykh rastenii i dekorativnykh kustarnikov. Mikrorazmnozhenie i ozdorovlenie rastenii v promyshlennom plodovodstve i tsvetovodstve: sb. nauchn. tr. VNIIS im. I. V. Michurina. Michurinsk, 1989, pp. 3–8.

Работа поступила в редакцию 20.05.2016 г.

Принята к публикации 22.05.2016 г.