

Оригинальная статья / Original article

<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2024-6-117-127>
УДК: 635.11:631.524.86

С.А. Ветрова*, Е.Г. Козарь,
К.С. Мухина, И.А. Енгальчева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный научный центр овощеводства" (ФГБНУ ФНЦО) 143072, Россия, Московская область, Одинцовский район, п. ВНИССОК, ул. Селекционная, д. 14

*Автор для переписки: lana-k2201@mail.ru

Финансирование. Исследования выполнены по Государственному заданию FGGF-2022-0016, FGGF-2024-0020.

Вклад авторов. Ветрова С.А.: научное руководство исследованием, методология, верификация и администрирование данных, проведение и анализ лабораторных и полевых исследований, создание рукописи и её редактирование; Козарь Е.Г.: методология, концептуализация, верификация и администрирование данных, проведение и анализ полевых и лабораторных исследований, создание рукописи и её редактирование, ресурсы; Мухина К.С.: проведение и анализ лабораторных и полевых исследований, создание рукописи, ресурсы; Енгальчева И.А.: методология, проведение и анализ лабораторных исследований, ресурсы, создание рукописи и её редактирование.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Ветрова С.А., Козарь Е.Г., Мухина К.С., Енгальчева И.А. Влияние *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* на функциональные характеристики микрогаметофита сортов свеклы столовой с разным уровнем устойчивости к бактериозу. *Овощи России*. 2024;(6):117-127. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2024-6-117-127>

Поступила в редакцию: 20.10.2024

Принята к печати: 25.11.2024

Опубликована: 29.11.2024

Svetlana A. Vetrova*, Elena G. Kozar,
Kseniya S. Muhina, Irina A. Engalycheva

Federal State Budgetary Scientific Institution
Federal Scientific Vegetable Center (FSBSI FSVC)
14, Selektsionnaya str., VNISSOK,
Odintsovo district, Moscow region,
Russia, 143072

*Correspondence Author: lana-k2201@mail.ru

Funding. The research was carried out under State Assignment FGGF-2022-0016, FGGF-2024-0020.

Authors' Contribution: Vetrova S.A.: scientific supervision of the study, methodology, data verification and administration, conducting and analyzing laboratory and field studies, writing and editing the manuscript. Kozar E.G.: methodology, conceptualization, data verification and administration, conducting and analyzing field and laboratory studies, writing and editing the manuscript, resources. Mukhina K.S.: conducting and analyzing laboratory and field studies, writing the manuscript, resources. Engalycheva I.A.: methodology, conducting and analyzing laboratory studies, resources, writing and editing the manuscript.

Conflict of interest. The authors declare that there are no conflicts of interest.

For citation: Vetrova S.A., Kozar E.G., Muhina K.S., Engalycheva I.A. The influence of *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* on the functional characteristics of the microgametophyte of beetroot varieties with different levels of resistance to bacteriosis. *Vegetable crops of Russia*. 2024;(6):117-127. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2024-6-117-127>

Received: 20.10.2024

Accepted for publication: 25.11.2024

Published: 29.11.2024

Влияние *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* на функциональные характеристики микрогаметофита сортов свеклы столовой с разным уровнем устойчивости к бактериозу

Check for updates



РЕЗЮМЕ

Актуальность. Увеличение распространения бактериоза на свекле столовой в условиях Московской области несет эпидемиологическую опасность, что актуализирует исследования по разработке методики оценки растений на устойчивость к бактериозу на ранних стадиях онтогенеза.

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

Материалы и методы. Объекты исследований: растения свеклы столовой сортопопуляций Маруся и Красный бархат, коллекционный штамм Psa 1-21. С применением фитопатологических методов и методов гаметной селекции проводили оценку устойчивости растений в различных вариантах заражения спорофита и гаметофита суспензией и культуральным фильтратом Psa.

Результаты. Средний объем зоны поражения Psa корнеплодов сорта Маруся был в 3,5 раза больше, чем у сорта Красный бархат ($V_p=53 \text{ мм}^3$), который характеризовался выровненностью и отсутствием восприимчивых форм ($V_p>300 \text{ мм}^3$). У сорта Маруся выявлен широкий внутрипопуляционный полиморфизм по устойчивости корнеплодов и листьев, где большинство генотипов проявили среднюю или высокую восприимчивость к возбудителю. У обоих сортов отмечено повышение на 10-30% относительно контроля жизнеспособности пыльцы при высокой (КОЕ 12×10^8 кл/мл) и низкой (КОЕ $2,4 \times 10^8$ кл/мл) концентрациях патогена. Отмечено положительное влияние Psa на рост пыльников трубок: у сорта Маруся по мере увеличения концентрации стимулирующий эффект возрастал, у сорта Красный бархат – постепенно снижался. При добавлении разбавленного в 2,5 раза культурального фильтрата Psa у восприимчивого сорта Маруся отмечено повышение жизнеспособности пыльцы (на 3%), у устойчивого сорта Красный бархат – снижение на 24% относительно контроля. По скорости роста пыльцевой трубки дифференцирующим было также разведение 4:6, где средняя длина трубок восприимчивого сорта превысила контроль на 10%, а у устойчивого сорта была ниже контрольного варианта на 18%.

Заключение. 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.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

свекла столовая (*Beta vulgaris* L.), *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*, устойчивость, микрогаметофит, спорофит, симптомы бактериоза, корреляционная зависимость

The influence of *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* on the functional characteristics of the microgametophyte of beetroot varieties with different levels of resistance to bacteriosis

ABSTRACT

Relevance. An increase in the spread of bacteriosis on beetroot in the conditions of the Moscow region carries an epidemiological danger, which actualizes research on the development of a methodology for evaluating table beet plants for resistance to bacteriosis in the early stages of ontogenesis.

The aim of the research. To identify the nature of the relationship between the reaction of sporophyte and microgametophyte to infection with *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* (Psa) bacterium of beetroot varieties with different resistance of root crops to bacteriosis.

Materials and methods. Objects of research: beetroot plants of the Marusya and Krasny Barhat variety populations, collection strain Psa 1-21. Using phytopathological methods and methods of gamete breeding, plant resistance was assessed in various variants of infection of sporophyte and gametophyte with suspension and culture filtrate of Psa.

Results. The average volume of the affected area of the Psa root crops of the Marusya variety was 3.5 times greater than that of the Krasny Barhat variety ($V_p = 53 \text{ mm}^3$), which is characterized by alignment and absence of susceptible forms ($V_p > 300 \text{ mm}^3$). The Marusya variety has a wide intrapopulation polymorphism in the stability of root crops and leaves, where most genotypes showed medium or high susceptibility to the pathogen. Both varieties showed an increase of 10-30% relative to the control of pollen viability at high (CFU 12×10^8 cl/ml) and low (CFU 2.4×10^8 cl/ml) concentrations of the pathogen. The positive effect of Psa on the growth of pollen tubes was noted: in the Marusya variety, as the concentration increased, the stimulating effect increased, in the Krasny Barhat variety, it gradually decreased. When adding a 2.5-fold diluted Psa culture filtrate, the susceptible Marusya variety showed an increase in pollen viability (by 3%), and the resistant Krasny Barhat variety showed a 24% decrease relative to the control. According to the growth rate of the pollen tube, the 4:6 dilution was also differentiating, where the average length of the tubes of the susceptible variety exceeded the control by 10%, and in the stable variety it was 18% lower than the control variant.

Conclusion. An inverse relationship was revealed between the resistance of sporophyte to Psa and changes in the functional parameters of the microgametophyte of beetroot varieties Marusya and Krasny Barhat under the influence of a phytopathogen. The results obtained indicate the prospects for the development of a methodology for the selection of bacteriosis-resistant genotypes of beetroot by the reaction of microgametophyte.

KEYWORDS:

beetroot (*Beta vulgaris* L.), *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*, resistance, microgametophyte, sporophyte, symptoms of bacteriosis, correlation dependence

Введение

В решении проблемы развития овощеводческой отрасли значительная роль отводится созданию гибрида, как основного элемента современных технологий возделывания овощных культур [1]. Большая часть площадей свеклы столовой у крупных производителей заняты гибридами F₁ иностранной селекции в связи с более высокой их урожайностью, товарностью, технологичностью. Однако иностранные гибриды зачастую являются восприимчивыми к аборигенным расам фитопатогенов, что влечет за собой снижение рентабельности производства товарной продукции свеклы столовой [2, 3]. Кроме того, привлечение посевного и посадочного материала из разных стран влечет за собой распространение ранее незарегистрированных болезней различной этиологии [4].

В последние годы на сельскохозяйственных растениях повышается вредоносность фитопатогенных бактерий *Pseudomonas syringae*. Данную группу бактерий с разным уровнем патогенности и различными фазами жизненного цикла (эпифитной и эндофитной) постоянно выделяют из разнообразных экологических ниш [5, 6]. Вид *P. syringae* объединяет 57 патовариантов, специализацию которых традиционно определяют на основе первичного растения-хозяина [7]. Представители вида -граммотрицательные палочковидные бактерии с одним жгутиком, включают в себя флуоресцирующие и нефлуоресцирующие штаммы, относящиеся к классу гамма-протеобактерий. Характерной особенностью *P. syringae* является отсутствие оксидазной и аргинингидролазной активности, наличие сидерофора пиовердина. Бактерии *P. syringae* продуцируют фитотоксин сириномицин, нарушающий баланс ионов при транспорте через плазматическую мембрану, что приводит к нарушениям водного и электролитного состава клеток [8, 9], могут инфицировать все органы растений, в том числе цветки и даже пыльцу, системно распространяясь потом по растению [10].

Ранее бактериальная пятнистость листьев, вызываемая бактерией *Psa*, была зарегистрирована на посевах сахарной и столовой свеклы, мангольда, дыни, тыквы в странах Северной и Южной Америки, Европы, Азии, а также в Австралии и в Новой Зеландии. В 90-е годы во Франции поражение бактерией *Psa* культуры дыни вызвало эпифитотию с потерей урожая до 80–100%, что свидетельствует об огромном патогенном потенциале данного возбудителя [11–13]. В последние годы под воздействием ряда факторов, в том числе потепления климата, на культуре свеклы усиливается вредоносность бактерии *Psa*, вызывающей бактериальную пятнистость листьев. Исследователями показано, что колонии *Psa* на среде YDC серо-белые, круглые, с ровными краями, нефлуоресцирующие. Порядка 50 % штаммов обладали слабой пектолитической активностью, гидролизвали эскулин, были оксидазо-отрицательными, аргинин-дегидролаза – отрицательными, леван-положительными [10, 14].

На ранней стадии симптомы бактериоза на корнеплодных культурах очень схожи с пятнистостью листьев, вызываемой *Cercospora beticola*, и про-

являются в виде некротических пятен неправильной или круглой формы со светло-коричневым центром и блестящими черными краями [11, 15]. При дальнейшем развитии бактерия, системно поражая сосуды листьев, черешков и стеблей растений, проникает в корнеплод и вызывает побурение сосудистых пучков. Патоген сохраняется в пораженных семенах, в грунте на остатках больных растений, в виде внутренней инфекции маточных корнеплодов, чаще без внешнего проявления симптомов болезни [16, 17].

Из-за сходства с церкоспорозом, данный возбудитель бактериоза долгое время не был обнаружен на посевах свеклы в Российской Федерации. Первое сообщение об эпифитотии бактериоза в условиях Краснодарского края появилось только в 2017 году, где было зарегистрировано поражение 50% производственных посевов свеклы сахарной [18]. В 2019 году в Московской области на коллекционных образцах свеклы столовой южного происхождения южного происхождения также была выделена и идентифицирована бактерия *Psa*, вызывающая симптомы сосудистого бактериоза без внешних признаков поражения корнеплодов [14, 19]. 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 селекционном процессе на устойчивость важно иметь фонд родителей-доноров для выведения устойчивых линий, создание которых является сложным и длительным процессом, связанным с биологическими особенностями и двулетним циклом развития растений свеклы столовой. В классической селекции для получения устойчивых линий проводят многолетний отбор в условиях искусственного заражения, что является очень длительным и затратным способом. Поэтому требуется разработка и внедрение в селекционную практику методов экспресс-оценки свеклы столовой на устойчивость к возбудителю бактериоза свеклы на ранних стадиях развития, позволяющих оценить большое число генотипов, выделить источники, повысить эффективность отбора генотипов. Данные приемы позволят на несколько лет сократить селекционный процесс [1, 2].

Одним из эффективно используемых методов на ряде сельскохозяйственных культур является возможность применения оценки устойчивости микрогаметофита к абиотическим и биотическим факторам, позволяющей с минимальными затратами провести скрининг большого числа популяций и в короткие сроки выделить ценные генотипы для селекционной работы. Значимость гаметофитной фазы развития, как правило, недооценивают и, чаще всего, она играет только "пассивную" роль в традиционных методах селекции, несмотря на важность гаметофитного отбора в эволюционном процессе покрытосеменных растений [20].

Концепция отбора на уровне гамет впервые была предложена Стадлером еще в 1944 году, который рассматривал пыльцу как независимый организм, передающий и свою собственную генетическую информацию. Но только спустя 30 лет была выдвинута идея включения

гаметофитного отбора в селекционный процесс. Стали интенсивно развиваться исследования, направленные на изучение совпадений экспрессии генов устойчивости на спорофитном и гаметофитном уровнях, оценки сходства поведения растительного организма между этими двумя фазами в отношении различных внешних стрессов [21, 22]. Основой теории гаметофитного отбора является то, что отбор среди гаплоидных гетерогенных во своем составе популяций мужских гаметофитов может положительно коррелировать с изменениями в следующем спорофитном поколении. Отбор по микрогаметофиту является также эффективной стратегией увеличения частоты встречаемости в потомстве желательных генов [23]. Показано, что различные факторы воздействия на гаметофит, такие как водный и температурный стресс, гербициды и патотоксины, приводят к увеличению числа устойчивых особей в последующем потомстве [24].

В последние годы исследователями посредством оценки устойчивости генотипов на гаметофитном уровне выделены и включены в селекционный процесс генотипы лука устойчивые к бактерии *Pectobacterium corotovorum* [25], нута – к возбудителям фузариозного увядания [26], подсолнечника – к грибу *Alternaria helianthi* [27] и другие. При этом следует отметить, что совпадение реакции спорофита и гаметофита при воздействии на них патогенного объекта неоднозначно и обусловлено видоспецифичностью. Так, на культуре лука репчатого при определении реакции пыльцы на бактериальную суспензию *Erwinia corotovora* выявлена положительная корреляционная зависимость между устойчивостью растений на спорофитной и гаметофитной стадиях развития [25]. На капусте белокочанной, напротив, было показано негативное влияние бактериальной суспензии патогена *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* на жизнеспособность пыльцы устойчивых по спорофиту растений к сосудистому бактериозу, тогда как на прорастание пыльцы восприимчивых образцов патоген оказывал стимулирующее действие [28]. То есть, для успешного скрининга устойчивости генотипов на стадии микрогаметофита важно знать их спорофитные характеристики при различных стрессах, установить характер взаимосвязи между реакцией на фактор отбора спорофита и гаметофита каждой конкретной культуры и типа патосистемы [20].

Цель работы – выявить характер взаимосвязи между реакцией спорофита (корнеплод, отделенный лист) и микрогаметофита (пыльца) на заражение бактерией *Psa* сортов свеклы столовой с различной устойчивостью корнеплодов к бактериозу.

Материалы и методы исследований.

Исследования проводили в 2023–2024 годах на базе лабораторий молекулярно-иммунологических исследований (МИИ), селекции и семеноводства столовых корнеплодов ФГБНУ ФНЦО в Одинцовском районе Московской области. Материал исследований: коллекционный изолят *Psa* (*Psa* 1-21); корнеплоды, листья и популяции пыльцевых зерен растений двух сортов свеклы столовой селекции ФГБНУ ФНЦО Маруся и Красный бархат.

Маточные корнеплоды анализируемых сортов выращивали в коллекционном питомнике в 2023 году на

опытном поле основного севооборота ФГБНУ ФНЦО (посев 25 мая – уборка 15 сентября) на грядах по схеме 70+30+70 согласно общепринятым методикам [29]. Во время уборки урожая товарные корнеплоды каждого сорта без признаков поражения болезнями помещали в овощные сетки и закладывали в контейнеры с полиэтиленовыми вкладышами на хранение в овощехранилище при температуре 1–2 °C и влажности 90–92%, в течение семи месяцев (до II декады апреля). После хранения во время весеннего анализа (апрель 2024 года) проводили отбор не пораженных болезнями типичных для сортов маточных корнеплодов для иммунологической оценки в условиях *in vitro* на устойчивость к сосудистому бактериозу, вызываемому *Psa*.

Коллекционный штамм *Psa* 1-21 культивировали на агаризованной питательной среде LB (Luria Bertani Broth, Miller) в течение 48 часов при температуре 28 °C. Бактериальную суспензию готовили в стерильной дистиллированной воде в концентрации 1,2x10⁹ КОЕ/мл (по стандарту МакФарланда титр №4) методом смыва с поверхности питательной среды. Фильтрат культуральной жидкости получали после культивирования бактерии в жидкой питательной среде LB. Для этого в конические колбы объемом 250 мл с жидкой средой (объем среды 100 мл) вносили 1 мл бактериальной суспензии в концентрации 1x10⁹ КОЕ/мл, с дальнейшим инкубированием при температуре 27 °C на орбитальном шейкере при 110 оборотах в минуту в течение 3 суток. Далее содержимое колб фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм с помощью вакуумного насоса.

Оценку устойчивости растений свеклы столовой к *Psa* проводили в серии независимых лабораторных опытов с использованием различных вариантов заражения 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.

В первом опыте проводили заражение путем инокуляции высечек (дисков) корнеплодов сортов Маруся и Красный бархат [30]. Отобранные 12 маточных корнеплодов каждого сорта тщательно промывали в проточной водопроводной воде с мылом, затем подвергали поверхностной стерилизации, погружая в 50 % раствор гипохлорита натрия на 15 минут, после чего дважды промывали в стерильной воде и маркировали. После стерилизации, отрезали 1/3 боковой части корнеплодов, делили на диски размером 4x3x1 см и помещали в пластиковые контейнеры. Затем в центральной части дисков стерильной иглой от шприца делали два укола глубиной 3 мм на расстоянии примерно 1 см друг от друга и дозированно вносили по 200 мкл инокулята в каждый прокол. В контроле в качестве инокулята использовали стерильную воду. В каждом варианте 12 корнеплодов в трехкратной повторности.

В контейнерах с зараженными дисками корнеплодов создавали условия влажной камеры и помещали в термостат при температуре 20 °C. Учет симптомов и степени поражения оценивали на десятые сутки после заражения, измеряя диаметр и глубину с последующим расчетом объема зоны поражения (V_p , мм³), который является наиболее информативным критерием оценки

агрессивности патогенов и уровня устойчивости генотипов корнеплодных культур [31]. Промаркированные маточные корнеплоды после иммунологической оценки высаживали в грунт, где они формировали новую розетку листьев и цветоносы.

Во втором опыте, после отрастания листовой розетки высаженных корнеплодов, проводили заражение отделенных листьев в условиях *in vitro*. С каждого растения срезали листья одного возраста, тщательно промывали под проточной водой, замачивали на 10 минут в слабом мыльном растворе, потом трижды ополаскивали стерильной водой. Заражение проводили путем погружения черешка листа, предварительно срезав 0,5 см его основания, в пробирки с 10 мл бактериальной суспензии или культурального фильтрата в различных разведениях. Активность бактериальной суспензии испытывали в концентрации $1,2 \times 10^9$ КОЕ/мл. Фитотоксичность культурального фильтрата испытывали только в двух разведениях 5:5 и 1:9, поскольку в меньших разведениях чистая питательная среда LB сама вызывала увядание листьев. Контроль – стерильная вода. Опыт закладывали в четырехкратной повторности, по три настоящих листа каждого сорта в каждой повторности. Пробирки с листьями инкубировали в штативах при температуре 20-22 °С при рассеянном свете. Учет симптомов поражения бактериозом проводили по пятибалльным шкалам. Хлороз и некроз: 0 – поражение отсутствует; 1 – поражение очень слабое, единичные хлорозные или некрозные пятна площадью до 10% поверхности листовой пластины; 2 – поражение слабое, до 20% поверхности листа занимает некроз или до 30% – хлороз; 3 – поражение среднее, до 50% – некроз или до 70% хлороз; 4 – поражение сильное, более 50% – некроз, хлороз более 70%. Шкала учета увядания: 0 – отсутствует; 1 – подвядает край листовой пластины; 2 – подвядает 50% листовой пластины; 3 – подвядает вся листовая пластина без потери тургора центрального черешка; 4 – полное увядание с подсыханием листовой пластинки. Характер распространения симптомов регистрировали в динамике: на четвертые и десятые сутки после заражения.

При обоих способах заражения из пораженных тканей дисков корнеплодов и листьев были реизолированы бактерии с идентичными характеристиками колоний, что и испытываемый изолят из пораженных тканей сосудов корнеплодов, то есть подтверждены постулаты Коха.

В третьем опыте изучали влияние водной суспензии *Psa* и культурального фильтрата патогена на прорастание микрогаметофита *in vitro* анализируемых сортов свеклы столовой. Для проращивания пыльцы использовали следующий состав питательной среды (на 100 мл): ПЭГ-6000 – 25 г, сахароза – 15 г, H_3BO_3 – 5 мг, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 15 мг, pH 5,8-6,5 (контроль) [32]. В зависимости от варианта опыта среды готовили на основе дистиллированной стерильной воды (контроль), на основе соответствующих концентраций водной бактериальной суспензии и разведений культурального фильтрата, куда добавляли выше перечисленные ингредиенты. Варианты опыта: бактериальная суспензия – исходная концентрация $1,2 \times 10^9$ КОЕ/мл и разведения 2:8, 4:6, 5:5, 7:3, 9:1; культуральный фильтрат – исходный и разведения 2:8, 4:6, 5:5.

Пыльники с индивидуальных промаркированных растений собирали во время цветения утром (с 8 до 10 часов) с раскрывшихся цветков, помещая их в пластиковые боксы с крышками, где ее хранили до начала эксперимента в течение 1-2 часов при комнатной температуре в темноте. Пыльцу осторожно вытряхивали из пыльников на пергаментные листы и с помощью препаровальных игл осуществляли посев на стерильные предметные стекла с каплями (20 мкл) питательной среды каждого варианта в трехкратной повторности. Стекла помещали во влажную камеру в чашках Петри и инкубировали на рассеянном свете при температуре 24...25 °С в течение двух часов. Препараты с проросшей пылью фиксировали дифференциальным красителем по Данвеллу [33]. Цифровую микрофотосъемку пяти окуляр-полей в каждой капле осуществляли на микроскопе Zeiss Axio Lab A1 с помощью фотонасадки ADF с программным обеспечением Image Capture (версия x64, 4.11.21522.20221011). В дальнейшем на основе полученных снимков с использованием этой программы проводили подсчет жизнеспособных (проросших) и не проросших пыльцевых зерен, измеряли длину пыльцевых трубок. Объем выборки для подсчетов и измерений в каждом варианте составлял 300-500 пыльцевых зерен в трехкратной повторности.

Анализ экспериментальных данных и статистическая оценка были выполнены в Microsoft Excel 2016 для Windows 10 и Statistical 7.0.

Результаты исследований

Для выявления характера взаимосвязи между реакцией спорофита и гаметофита на искусственное заражение *Psa*

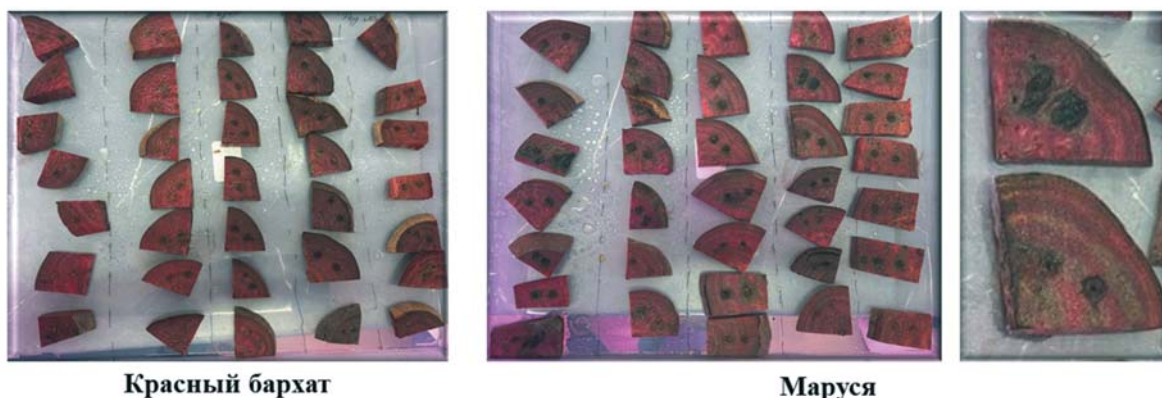


Рис. 1. Симптомы проявления бактериоза при искусственном заражении высечек корнеплодов свеклы столовой *Psa* на 10 сутки после заражения

Fig. 1. Symptoms of bacteriosis during artificial infection of red beet root cuttings *Psa* on the 10th day after infection

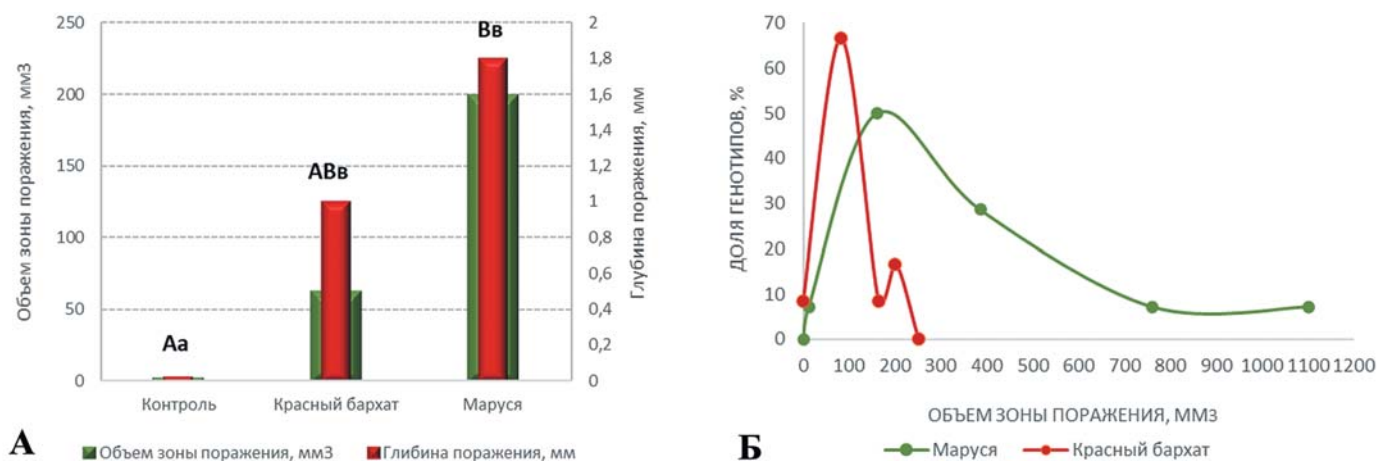


Рис. 2. Объем и глубина зоны поражения дисков корнеплодов (А) и распределение генотипов (Б) в пределах сортопопуляций свеклы столовой Маруся и Красный бархат при искусственной инокуляции коллекционным штаммом *Psa* 1-21

Примечание: существенность различий с вероятностью 95% согласно тесту Дункана между сортами по показателю «объем зоны поражения» обозначена заглавными буквами (А, В), по «глубине поражения» - прописными (а, b)

Fig. 2. The volume and depth of the lesion zone of root crop discs (A) and the distribution of genotypes (B) within the varietal populations of beetroot Marusya and Krasny Barhat with artificial inoculation with the collection strain *Psa* 1-21

Note: the significance of differences with a 95% probability according to the Duncan test between varieties in terms of "volume of the affected area" is indicated in capital letters (A, B), in "depth of the lesion" - in capital letters (a, b).

растений свеклы столовой, изучали воздействие патогена на корнеплоды, отделенные листья, микрогаметофит. В исследование включили два сорта селекции ФНЦО Маруся и Красный бархат с разной устойчивостью корнеплодов к бактериозу на основе оценки на естественном инфекционном фоне в течение трех лет, что было подтверждено и результатами иммунологической оценки в условиях *in vitro*. 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 (рис. 1). Подобные симптомы были зарегистрированы на корнеплодах, пораженных бактериозом на естественном инфекционном фоне, откуда был выделен, а затем идентифицирован, включенный в данные исследования коллекционный штамм *Psa* 1-21.

Для фактической фиксации степени поражения дисков исследуемых сортов учитывали объем и глубину зоны поражения, которые дают более полное представление о характере развития патогена в тканях корнеплода и позволяют выявить сортоспецифичность реакции на заражение [19]. 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 (рис. 2 А). По степени распространения патогена вглубь тканей, значимых различий между сортами не выявлено. Глубина зоны поражения в пределах обоих сортов варьировала от 0,5 до 4 мм и в среднем у сорта Маруся составляла 1,8 мм, у сорта Красный бархат – 1,1 мм. Таким образом, при инокуляции дисков корнеплодов сорта Маруся наблюдали равномерное распространение патогена как по поверхности, так и вглубь тканей, тогда как у сорта

Красный бархат в первую очередь наблюдали быстрое поражение внутренних тканей, с дальнейшим постепенным незначительным расширением внешнего диаметра зоны поражения по поверхности диска.

Следует отметить, что сортопопуляция Красный бархат более выровнена по устойчивости индивидуальных генотипов и в ней отсутствуют высоковосприимчивые формы ($V_p > 300$ мм³), доля которых в сортопопуляции Маруся составила 17% от числа проанализированных маточных корнеплодов (рис. 2Б).

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 (рис. 3). У сорта Красный бархат симптомы бактериоза были менее выражены, особенно в отношении увядания (0-1 балл). Однако в его популяции, в отличие от корнеплодов, на листьях отдельных генотипов на четвертые сутки отмечена высокая степень развития хлороза и некроза, но доля таких генотипов составила всего 16%, а десятые сутки дифференциация сортов по устойчивости листьев была менее выражена, пораженная ткань у обоих сортов занимала уже 80-100% листовой пластинки, приобретала темно-коричневую, почти черную окраску, листья практически полностью увядали и засыхали, что свидетельствует о высокой агрессивности патогена в отношении отделенных листьев свеклы столовой (рис. 4). Тем не менее, полученные результаты подтвердили, что на уровне спорифита (корнеплоды и листья) выбранные сорта Маруся и Красный бархат достоверно отличаются по устойчивости к возбудителю бактериоза – *Psa*.

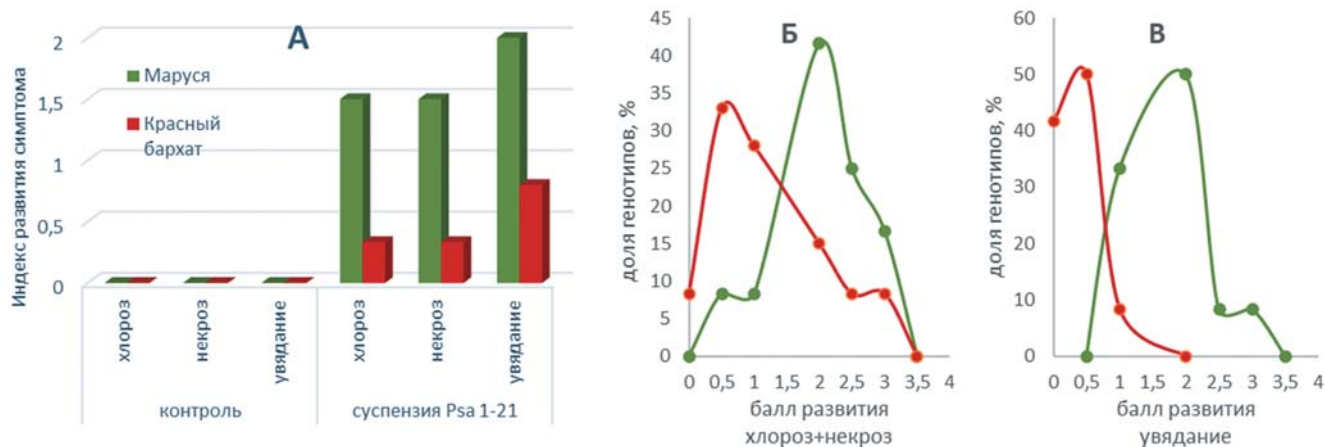


Рис. 3. Степень развития симптомов (А) и распределение генотипов (Б, В) в пределах сортопопуляций свеклы столовой Маруся и Красный бархат при искусственной инокуляции отдельных листьев коллекционным штаммом Psa 1-21
Fig. 3. The degree of development of symptoms (A) and the distribution of genotypes (B, C) within the varietal populations of beetroot Marusya and Krasny Barhat with artificial inoculation of separated leaves with the collection strain Psa 1-21

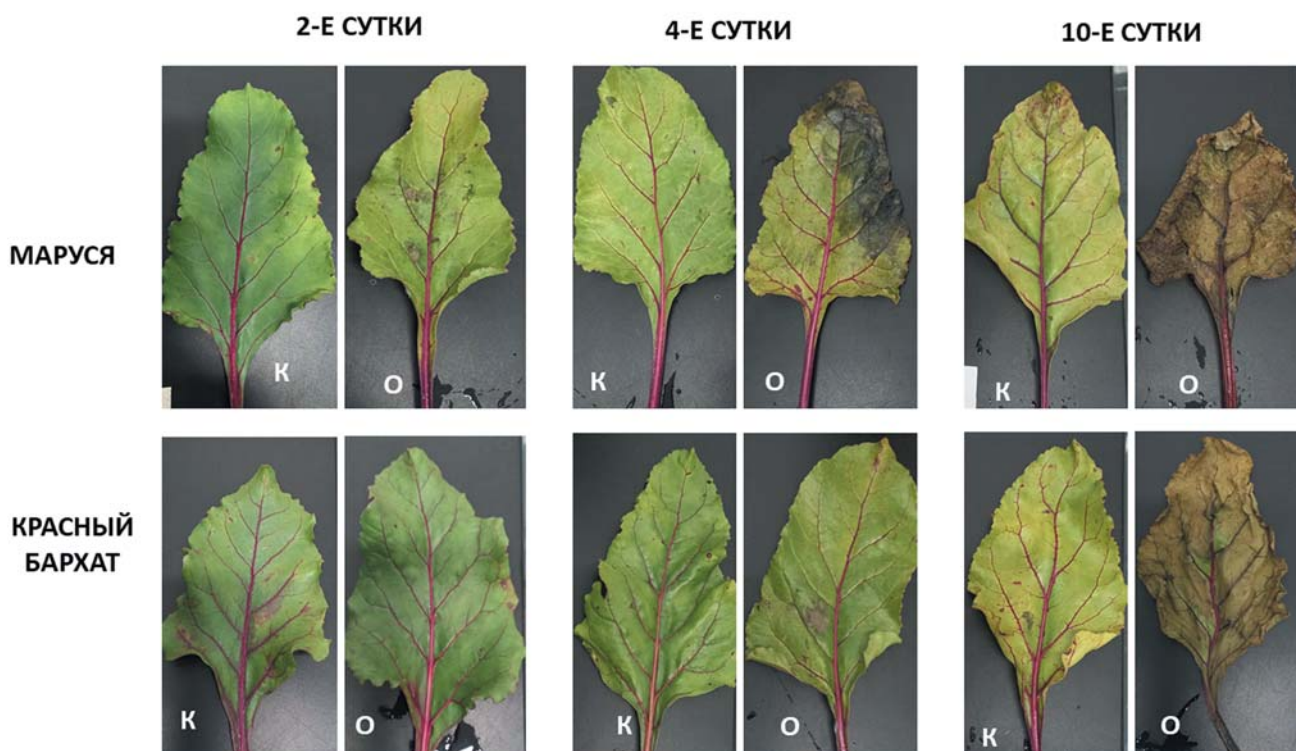


Рис. 4. Динамика развития симптомов бактериоза на отдельных листьях свеклы столовой сортопопуляций Маруся и Красный бархат при искусственной инокуляции коллекционным штаммом Psa 1-21 (бактериальная суспензия)
Fig. 4. Dynamics of the development of bacteriosis symptoms on separated beet leaves of the Marusya and Krasny Barhat varietal populations during artificial inoculation with the collection strain Psa 1-21 (bacterial suspension)

Реакцию микрогаметофита на присутствие в питательной среде клеток возбудителя изучали на общепопуляционном уровне в пределах каждого сорта. Для этого в период массового цветения собирали пыльники со всех анализируемых семенных растений. Выделенную пыльцу объединяли, аккуратно перемешивали и проводили посев на питательные среды в соответствии с вариантами опыта. Анализ полученных результатов выявил неоднозначную зависимость между изменением функциональных параметров микрогаметофита, концентрацией бактериальных клеток патогена в питательной среде и устойчивостью сорта к возбудителю. Жизнеспособность пыльцы и длина пыльцевых трубок сорта Красный бархат, в целом во всех вариантах, были выше, чем у сорта Маруся. В контроле (ЖСП) составила 32% и 9%, а длина пыльцевых трубок в среднем 67 мкм и 40

мкм соответственно (табл. 1).

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. Соответственно, кривые величин отклонений от контроля по данному параметру в зависимости от концентрации клеток патогена в среде имели вид параболы (рис. 5А). 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.

Таблица 1. Влияние бактериальной суспензии Psa 1-21 на жизнеспособность пыльцы и рост пыльцевых трубок сортов свеклы столовой *in vitro* в зависимости от ее концентрации в питательной среде для проращивания пыльцы
Table 1. Effect of bacterial suspension Psa 1-21 on pollen viability and growth of pollen tubes of beetroot varieties *in vitro*, depending on its concentration in the nutrient medium for pollen germination

Вариант опыта		Доля проросшей пыльцы (ЖСП),		Средняя длина пыльцевой трубки, мкм	
Разведение суспензии	КОЕ, кл/мл	сорт Маруся	сорт Красный бархат	сорт Маруся	сорт Красный бархат
Контроль	0	9	34	40	67
2:8	2,4x10 ⁸	37	53	51	119
5:5	6,0x10 ⁸	8	46	59	81
7:3	8,4x10 ⁸	6	29	64	77
9:1	10,8x10 ⁸	13	24	66	78
10:0	12x10 ⁸	34	46	92	94
HCP ₀₅		11	8	12	18

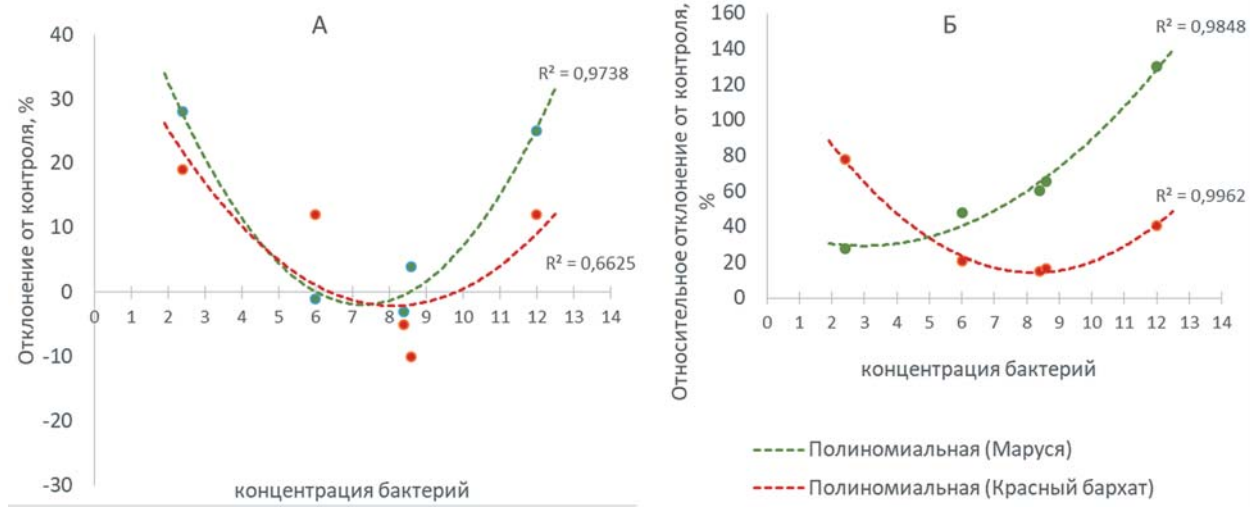


Рис. 5. Отклонения показателей жизнеспособности пыльцы (А) и длины пыльцевой трубки (Б) у сортов свеклы столовой в опытных вариантах от контроля в зависимости от концентрации клеток (КОЕ, x108 кл/мл) Psa 1-21 в питательной среде для проращивания пыльцы
Fig. 5. Deviations of pollen viability (A) and pollen tube length (B) in beetroot varieties in experimental versions from control depending on the concentration of cells (CFU, x108 cl/ml) Psa 1-21 in the nutrient medium for pollen germination

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. Однако, в отличие от ЖСП, реакция сортов на изменение концентрации патогена отличалась (рис. 5 Б). У восприимчивого сорта по мере ее увеличения стимулирующий эффект возрастал и достигал максимума при КОЕ 12x10⁸ кл/мл. Длина пыльцевых трубок устойчивого, наоборот, постепенно снижалась и была наибольшей при низкой концентрации КОЕ 2,4x10⁸кл/мл (разведение 2:8).

В патогенезе развития бактериоза, вызываемого Psa, значимую роль играют также фитотоксичные экзо-метаболиты бактерий, резистентность к которым также определяет устойчивость растений анализируемых сортов. Как видно из рисунка 6, 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.



Рис. 6. Степень развития симптомов бактериоза на отделенных листьях сортов свеклы столовой Маруся и Красный бархат при искусственной инокуляции культуральным фильтратом Psa 1-21
Fig. 6. The degree of development of bacteriosis symptoms on the separated leaves of beetroot varieties Marusya and Krasny Barhat during artificial inoculation with Psa 1-21 culture filtrate

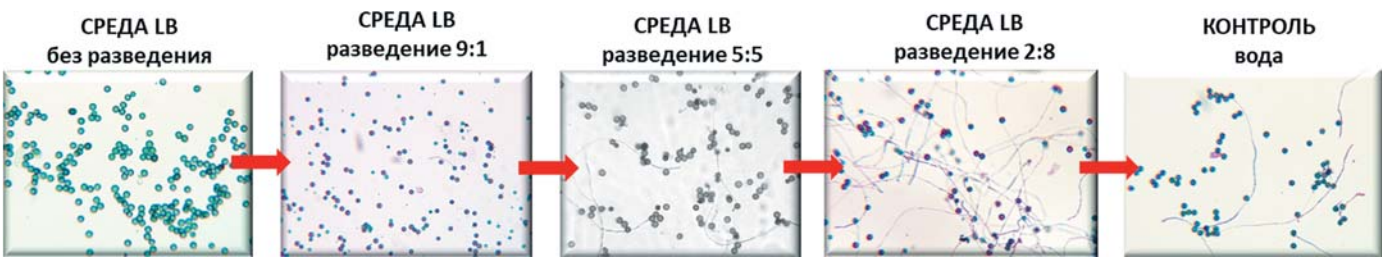


Рис. 7. Влияние среды LB в ряду разведений как основы питательной среды для проращивания на жизнеспособность и рост пыльцевых трубок пыльцы свеклы столовой *in vitro*
Fig. 7. The effect of LB medium in a number of dilutions as the basis of a nutrient medium for germination on the viability and growth of pollen tubes of beetroot pollen *in vitro*

Таблица 2. Влияние культурального фильтрата штамма Psa 1-21 на жизнеспособность пыльцы и рост пыльцевых трубок сортов свеклы столовой *in vitro* в зависимости от разведения
Table 2. Effect of Psa 1-21 strain culture filtrate on pollen viability and growth of pollen tubes of beetroot varieties *in vitro*, depending on breeding

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	

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 разведения отрицательное влияние на проращивание пыльцы быстро снижается и становится мало существенным, начиная с разведения 5:5 (рис. 7). Поэтому активность разных разведений культурального фильтрата Psa 1-21 оценивали в сравнении с чистым контролем (без добавления LB). Полученные результаты представлены в таблице 2, из которой видно, что 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. 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.

Закключение

Считается, что успех разработки методики экспресс-оценки устойчивости генотипов по реакции микрогаметофита на стрессовые факторы зависит от следующих важных условий – это наличие корреляции между реакцией спорофита и гаметофита на стрессор; совпадение генетического контроля между фазами спорофита и гаметофита; экспрессия целевых генов в пыльце в ответ на внешнее воздействие [20]. Спорофитная резистентность сортов свеклы столовой к бактериозу, возбудителем которого является *P. syringae* pv. *aptata*, определяется уровнем органоспецифичной (корнеплод, листья) устойчивости доминирующей группы генотипов в их популяциях. По корнеплодам сорт Красный бархат характеризуется выровненностью с преобладанием фракции устойчивых (80%) и отсутствием восприимчивых форм ($V_p > 300 \text{ мм}^3$), тогда как при заражении отделенных листьев доля восприимчивых генотипов составила около 16%. Сорт Маруся имеет более широкий внутрипопуляционный полиморфизм по устойчивости корнеплодов и листьев, где большинство генотипов проявляли среднюю или высокую восприимчивость к возбудителю. Проращивание пыльцы этих сортов на питательной среде с суспензией бактериальных клеток патогена выявило схожую реакцию на изменение концентрации

инвазионного начала в среде. Это резкое повышение относительно контроля доли проросших пыльцевых зерен при высокой (КОЕ 12×10^8 кл/мл) и низкой (КОЕ $2,4 \times 10^8$ кл/мл) концентрациях (на 10-30%) и ее снижение практически до уровня контрольных значений в диапазоне промежуточных разведений. У обоих сортов отмечено стимулирующее влияние патогена на рост пыльцевых трубок, причем у восприимчивого сорта Маруся оно увеличивалось по мере роста концентрации бактериальных клеток в питательной среде. Средняя длина пыльцевых трубок этого сорта через два часа проращивания в зависимости от разведения была на 20-140% выше, чем в контроле. В то же время максимальная длина трубок устойчивого сорта Красный бархат, наоборот, была зарегистрирована при самой низкой концентрации патогена в среде в разведении 2:8, превысив контроль на 80%, а при повышении концентрации стимулирующий эффект снижался и в разведении 7:3 составил только 18% относительно контроля.

Обратная взаимосвязь между устойчивостью спорифита и изменением функциональных параметров микрогаметофита разных сортов под влиянием фитопатогена была отмечена и на культуре капусты белокочанной к сосудистому бактериозу. Это связывают со способностью возбудителя выделять в среду различные

экзополисахариды и соединения гормонального типа, стимулирующих прорастание и рост пыльцевых трубок свеклы столовой, особенно восприимчивых генотипов. В данном случае, к устойчивым авторы относят генотипы, жизнеспособность пыльцы которых снижается в присутствии возбудителя, чем без такового [28]. В отношении свеклы столовой подобная зависимость более четко проявилась при добавлении в питательную среду для проращивания, разбавленного в 2,5 раза культурального фильтрата трехсуточной культуры *P. syringae* pv. *aptata* (разведение 2:8). У восприимчивого сорта Маруся в этом варианте отмечено повышение жизнеспособности пыльцы (на 3%), у устойчивого сорта Красный бархат – снижение на 24% относительно контроля. По скорости роста пыльцевой трубки дифференцирующим было также разведение 4:6, где средняя длина трубок восприимчивого сорта превысила контроль на 10%, а у устойчивого сорта она была ниже контрольного варианта на 18%. Полученные результаты модельного опыта свидетельствуют о перспективности начатых исследований с целью разработки методики оценки и отбора устойчивых к бактериозу генотипов свеклы столовой по реакции микрогаметофита. Для этого планируется расширить спектр агрессивных штаммов возбудителя и сортимент анализируемых образцов с различной генетической основой.

• Литература

- Ветрова С.А., Вюртц Т.С., Заячкова Т.В., Степанов В.А. Современное состояние рынка овощных корнеплодов в РФ и пути решения проблемы продовольственной безопасности. *Овощи России*. 2020;(2):16-22. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-2-16-22> <https://elibrary.ru/frzyol>
- Engalycheva I.A., Kozar E.G., Stepanov V.A., Sirota S.M., Soldatenko A.V. Resistance of carrots to diseases as a factor of increasing production profitability. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;(650):012054. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/650/1/012054> <https://elibrary.ru/fllstz>
- McGrath J.M., Panella L. Sugar Beet Breeding. In: Goldman I. *Plant Breeding Reviews*. 2018;(42):167-218. <https://doi.org/10.1002/9781119521358.ch5>
- Словарева О.Ю. Бактерии, имеющие значение для экспорта российской зерновой продукции. *Фитосанитария. Карантин растений*. 2024;S2-1(18):22. <https://elibrary.ru/hwzkyu>
- Berge O., Monteil C. L., Bartoli C., et al. A user's guide to a data base of the diversity of *Pseudomonas syringae* and its application to classifying strains in this phylogenetic complex. *PLoS ONE*. 2014;9(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105547>
- Енгальчева И.А., Козарь Е.Г., Антошкин А.А., Игнатов А.Н., Фролова С.Л. Патогенность бактерии *Pseudomonas syringae* DC3000 в отношении фасоли овощной и выделение источников устойчивости. *Достижения науки и техники АПК*. 2024;38(10):40-46. https://doi.org/10.53859/02352451_2024_38_10_40 <https://elibrary.ru/fobipn>
- Morris C.E., Kinkel L.L., Xiao K., et al. Surprising niche for the plant pathogen *Pseudomonas syringae*. *Infection, Genetics and Evolution*. 2007;7(1):84-92. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2006.05.002>
- Xin X.-F., Kvitko B., Yang He Sh. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen. *Nature reviews. Microbiology*. 2018;16(5):316-328. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.17>
- Петюренко М.Ю., Безлер Н.В., Хуссейн А.С. Скрининг бактерий рода *Pseudomonas*, ассоциированных с *Beta vulgaris* L., на наличие признаков патогенности и кодирующих их генов *sygB* и *hrpZ*. *Достижения науки и техники АПК*. 2020;34(1):16-19. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-10103> <https://elibrary.ru/qqyqzr>
- Lelliott R.A., Billing E., Hayward A.C. A Determinative Scheme for the Fluorescent Plant Pathogenic *Pseudomonads*. *Journal of Applied Bacteriology*. 1966;29(3):470-489. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1966.tb03499.x>
- 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. <https://doi.org/10.1094/phyto.2000.90.6.636>
- Nikolić I., Stanković S., Dimkić I., Berić T., Stojšin V., Janse J., Popović T. Genetic diversity and pathogenicity of *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* isolated from sugar beet. *Plant Pathology*. 2018;67(5):1194-1207. <https://doi.org/10.1111/ppa.12831>
- Sedighian N., Shams-Bakhsh M., Osdaghi E., Khodaygan P. Etiology and host range of bacterial leaf blight and necrosis of squash and muskmelon in Iran. *Journal of Plant Pathology*. 2014;96(3):507-514. <https://doi.org/10.4454/jpp.v96i3.3201>
- Игнатов А.Н., Паньчева 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>
- Janse J.D. A leaf spot disease of sugar beet, caused by *Pseudomonas syringae*. *Gewasbescherming*. 1979;(10):121-125.
- Лазарев А.М., Попов Ф.А. Бактериозы свеклы. *Защита и карантин растений*. 2014;(12):27-29. <https://elibrary.ru/szgeyh>
- Селиванова Г.А. Болезни сахарной свеклы при интенсифи-

- кации технологии выращивания культуры. *Земледелие*. 2013;(4):31–35. <https://elibrary.ru/qctijz>
18. Панычева Ю.С., Воронина М.В., Гресис В.О., Игнатов А.Н. Бактериальные болезни сахарной свёклы в Российской Федерации: распространение и вредоносность. *Сахар*. 2017;(11):2-6. <https://elibrary.ru/zxmdnn>
19. 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;37(10):63-69. https://doi.org/10.53859/02352451_2024_38_10_63 <https://elibrary.ru/ohbhia>
20. Sowmya H.H., Sumalatha G.M., Showkath Babu B.M., Supriya S.M., Ramya V., Kamatar M.Y. Pollen selection for selection of genotypes against different stress environments. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2018;7(1):3046-3049. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1756844>
21. Jourden C., Simmonneaux D., Renard M. Selection of pollen for linolenic acid content in rapeseed *Brassica napus* L. *Plant Breeding*. 1996;115(1):11–15. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1996.tb00863.x>
22. Кильчевский А.В., Антропенко Н.Ю., Пугачева И.Г. Изучение корреляционных связей между признаками спорофита и гаметофита томата в диаллельных скрещиваниях. Современное состояние и перспективы развития селекции и семеноводства овощных культур. Москва: ВНИИССОК. 2005. 20 с.
23. Ottaviano E., Sari-Gorla M. Gametophytic and sporophytic selection. *Plant Breeding. Principles and Prospects*. 1993. P. 333–352.
24. Ravikumar R.L., Patil B.S., Soregaon C.D. et al. Genetic evidence for gametophytic selection of wilt resistant alleles in chickpea. *Theor Appl Genet*. 2007;(114):619–625. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0462-4>
25. Агафонов А.Ф. Шмыкова Н.А. Использование мужского гаметофита в селекции лука репчатого на устойчивость к бактериозу. Методические указания по селекции и семеноводству луковых культур. М., 1997. С. 28-31.
26. Ravikumar R.L., Chaitra G.N., Anilkumar M., Choukimath C.D. Gametophytic selection for wilt resistance and its impact on the segregation of wilt resistance alleles in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica*. 2013;(189):173-181. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0745-6>
27. Ravikumar R.L., Chikkodi S.B. Association between sporophytic reaction to *Alternaria helianthi* and gametophytic tolerance to pathogen culture filtrate in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Euphytica*. 1998;(103):173–180.
28. Балашова Н.Н., Игнатов А.Н., Самохвалов А.Н., Рогачев Ю.Б., Шмыкова Н.А. Жизнеспособность микрогаметофита белокочанной капусты под влиянием возбудителей бактериозов и килы. *Сельскохозяйственная биология*. 1995;(5):115-118.
29. Буренин В.И., Пивоварова Н.С., Власова Э.А. Методические указания по изучению и поддержанию мировой коллекции корнеплодов. Ленинград: ВНИИР им. Вавилова; 1989. 88 с.
30. Самохвалов А.Н. Методы селекции овощных растений на устойчивость к болезням. Москва: АО «Моспромстройматериалы»; 1997. 206 с.
31. Тихонова Т.О., Козарь Е.Г., Енгальчева И.А., Степанов В.А. Скрининг коллекционных образцов моркови столовой и поиск источников устойчивости к белой гнили. *Таврический вестник аграрной науки*. 2023;36(4):159–173. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10280831> <https://elibrary.ru/kjnhps>
32. Козарь Е.Г., Фёдорова М.И., Ветрова С.А., Заячковский В.А., Степанов В.А. Оценка функциональных параметров микрогаметофита инбредных растений свеклы столовой (методические рекомендации). Москва: ООО «Полиграф Плюс». 2017. 34 с.
33. Данвелл Д.М., Бутенко Р.Г. Культура гаплоидных клеток. Биотехнология растений: культура клеток. М.: Агропромиздат. 1989. С. 33-51.

• References

- Vetrova S.A., Vjurtts T.S., Zayachkovskaya T.V., Stepanov V.A. Current state of the vegetable root crop market in the Russian Federation and ways to solve the problem of food security. *Vegetable crops of Russia*. 2020;(2):16-22. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-2-16-22> <https://elibrary.ru/frzyol>
- Engalycheva I.A., Kozar E.G., Stepanov V.A., Sirota S.M., Soldatenko A.V. Resistance of carrots to diseases as a factor of increasing production profitability. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;(650):012054. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/650/1/012054> <https://elibrary.ru/flstsz>
- McGrath J.M., Panella L. Sugar Beet Breeding. In: Goldman I. *Plant Breeding Reviews*. 2018;(42):167-218. <https://doi.org/10.1002/9781119521358.ch5>
- Slovareva O.Yu. Bacteria that prevent the export of Russian grain. *Plant health and quarantine*. 2024;S2-1(18):22. <https://elibrary.ru/hwzkyy> (In Russ.)
- Berge O., Monteil C. L., Bartoli C., et al. A user's guide to a data base of the diversity of *Pseudomonas syringae* and its application to classifying strains in this phylogenetic complex. *PLoS ONE*. 2014;9(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105547>
- Engalycheva I.A., Kozar' E.G., Antoshkin A.A., Ignatov A.N., Frolova S.L. Pathogenicity of pseudomonas syringae dc3000 on green beans and identification of resistance sources. *Achievements of science and technology in agro-industrial complex*. 2024;38(10):40-46. https://doi.org/10.53859/02352451_2024_38_10_40 <https://elibrary.ru/fobipn>
- Morris C.E., Kinkel L.L., Xiao K., et al. Surprising niche for the plant pathogen *Pseudomonas syringae*. *Infection, Genetics and Evolution*. 2007;7(1):84–92. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2006.05.002>
- Xin X.-F., Kvitko B., Yang He Sh. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen. *Nature reviews. Microbiology*. 2018;16(5):316–328. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.17>
- Peturenko M.Y., Bezler N.V., Hussein A.S. Screening of pseudomonas bacteria associated with beta vulgaris l. for signs of pathogenicity and SYRB and HRPZ genes encoding them. *Achievements of science and technology in agro-industrial complex*. 2020;34(1):16–19. (In Russ.) <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-10103> <https://elibrary.ru/qqyqzr>
- Lelliott R.A., Billing E., Hayward A.C. A Determinative Scheme for the Fluorescent Plant Pathogenic Pseudomonads. *Journal of Applied Bacteriology*. 1966;29(3):470–489. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1966.tb03499.x>
- 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. <https://doi.org/10.1094/phyto.2000.90.6.636>
- Nikolić I., Stanković S., Dimkić I., Berić T., Stojšin V., Janse

- J., Popović T. Genetic diversity and pathogenicity of *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* isolated from sugar beet. *Plant Pathology*. 2018;67(5):1194-1207. <https://doi.org/10.1111/ppa.12831>
13. Sedighian N., Shams-Bakhsh M., Osdaghi E., Khodaygan P. Etiology and host range of bacterial leaf blight and necrosis of squash and muskmelon in Iran. *Journal of Plant Pathology*. 2014;96(3):507–514. <https://doi.org/10.4454/jpp.v96i3.3201>
14. Ignatov A.N., Panycheva Yu.S., Voronina M.V., Gresis V.O., Pakina E.N. Leaf scorch and root rot of sugar beets caused by *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* in the Russian Federation. *Sakhar*. 2018;(7):14-17. (In Russ.) <https://elibrary.ru/xwfgmx>
15. Janse J.D. A leaf spot disease of sugar beet, caused by *Pseudomonas syringae*. *Gewasbescherming*. 1979;(10):121–125.
16. Lazarev A.M., Popov F.A. Bacterial diseases of beet. *Plant protection and quarantine*. 2014;(12):27-29. (In Russ.) <https://elibrary.ru/szgeyh>
17. Selivanova G.A. Diseases of sugar beet in the conditions of growing technology intensification of culture. *Zemledelie*. 2013;(4):31–35. (In Russ.) <https://elibrary.ru/qctijz>
18. Panycheva Yu. S., Voronina M. V., Gresis V. O., Ignatov A. N. Bacterial diseases of sugar beet in the Russian Federation: distribution and harmfulness. *Sakhar*. 2017;(11):2–6. (In Russ.) <https://elibrary.ru/zxmdnn>
19. Vetrova S.A., Kozar' E.G., Mukhina K.S., Zayachkovsky V.A. Pathogenicity of moscow isolate of *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* in relation to red beet crop. *Achievements of science and technology of the agro-industrial complex*. 2024;37(10):63-69. https://doi.org/10.53859/02352451_2024_38_10_63 <https://elibrary.ru/ohbhia>
20. Sowmya H.H., Sumalatha G.M., Showkath Babu B.M., Supriya S.M., Ramya V., Kamatar M.Y. Pollen selection for selection of genotypes against different stress environments. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2018;7(1):3046-3049. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1756844>
21. Jourden C., Simmonneaux D., Renard M. Selection of pollen for linolenic acid content in rapeseed *Brassica napus* L. *Plant Breeding*. 1996;115(1):11–15. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1996.tb00863.x>
22. Kilchevsky A.V., Antropenko N.Yu., Pugacheva I.G. Study of correlation links between tomato sporophyte and gametophyte traits in diallelic crosses. Current state and prospects for development of vegetable crop breeding and seed production. Moscow: VNIISOK; 2005. 20 p. (In Russ.)
23. Ottaviano E., Sari-Gorla M. Gametophytic and sporophytic selection. *Plant Breeding. Principles and Prospects*. 1993. P. 333–352.
24. Ravikumar R.L., Patil B.S., Soregaon C.D. et al. Genetic evidence for gametophytic selection of wilt resistant alleles in chickpea. *Theor Appl Genet*. 2007;(114):619–625. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0462-4>
25. Agafonov A.F. Shmykova N.A. Use of male gametophyte in selection of onions for resistance to bacteriosis. Methodological guidelines for breeding and seed production of onion crops. M.: 1997. P. 28-31. (In Russ.)
26. Ravikumar R.L., Chaitra G.N., Anilkumar M., Choukimath C.D. Gametophytic selection for wilt resistance and its impact on the segregation of wilt resistance alleles in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica*. 2013;(189):173-181. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0745-6>
27. Ravikumar R.L., Chikkodi S.B. Association between sporophytic reaction to *Alternaria helianthi* and gametophytic tolerance to pathogen culture filtrate in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Euphytica*. 1998;(103):173–180.
28. Balashova N.N., Ignatov A.N., Samohvalov A.N., Rogachev Yu.B., Shmykova N.A. Viability of white cabbage microgametophyte under the influence of bacteriosis and cotyledon pathogens. *Agricultural Biology*. 1995;(5):115-118. (In Russ.)
29. Burenin V. I., Pivovarova N. S., Vlasova E. A. Methodical instructions for the study and maintenance of the world collection of root crops. Leningrad: Vavilov Research Institute of Root Crops; 1989. 88 p. (In Russ.)
30. Samokhvalov A.N. Methods of selection vegetable plants for resistance to diseases. Moscow: JSC Mospromstroyaterialy; 1997. 206 p. (In Russ.)
31. Tikhonova T.O., Kozar' E.G., Engalycheva I.A., Stepanov V.A. Screening of collection samples of table carrots and search for sources of resistance to white rot. *Tavricheskiy Vestnik Agrarnoy Nauki*. 2023;36(4):159–173. (In Russ.) <https://doi.org/10.5281/zenodo.10280831> <https://elibrary.ru/kjnhrs>
32. Kozar E.G., Fedorova M.I., Vetrova S.A., Zayachkovsky V.A., Stepanov V.A. Evaluation of functional parameters of the microgametophyte of inbred beet plants (methodological recommendations). Moscow: OOO Poligraf Plus»; 2017. 34 p. (In Russ.)
33. Dunwell D.M., Butenko R.G. Culture of haploid cells. Plant biotechnology: cell culture. Moscow: Agropromizdat; 1989. P.33-51. (In Russ.)

Об авторах:

Светлана Александровна Ветрова – кандидат с.-х. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-иммунологических исследований, <http://orcid.org/0000-0002-9897-0413>, SPIN-код: 9887-1667, автор для переписки, lana-k2201@mail.ru

Елена Георгиевна Козарь – кандидат с.-х. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-иммунологических исследований, <https://orcid.org/0000-0002-1319-5631>, SPIN-код: 1148-5177, kozar_eg@mail.ru

Ксения Сергеевна Мухина – младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-иммунологических исследований, <https://orcid.org/0000-0002-7407-4139>, SPIN-код: 1103-3413, kseniyamukhina@yandex.ru

Ирина Александровна Енгальчева – кандидат с.-х. наук, ведущий научный сотрудник, зав. лаборатории молекулярно-иммунологических исследований, <https://orcid.org/0000-0003-4843-111x>, SPIN-код: 2084-2830, engirina1980@mail.ru

About the Authors:

Svetlana A. Vetrova – Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher of the Laboratory Molecular Immunological Research, <http://orcid.org/0000-0002-9897-0413>, SPIN-code: 9887-1667, Corresponding Author, lana-k2201@mail.ru

Elena G. Kozar – Cand. Sci. (Agriculture), Head Researcher of the Laboratory Molecular Immunological Research, <https://orcid.org/0000-0002-1319-5631>, SPIN-code: 1148-5177, kozar_eg@mail.ru

Kseniya S. Muhina – Junior Researcher of the Laboratory Molecular Immunological Research, <https://orcid.org/0000-0002-7407-4139>, SPIN-code: 1103-3413, kseniyamukhina@yandex.ru

Irina A. Engalycheva – Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher of the Laboratory Molecular Immunological Research, <https://orcid.org/0000-0003-4843-111x>, SPIN-code: 2084-2830, engirina1980@mail.ru