

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ РОСЛИН ТОМАТІВ ЗА БАКТЕРІАЛЬНОГО УРАЖЕННЯ

В.А. БОГОСЛАВЕЦЬ,

аспірант,

<https://orcid.org/0000-0002-6625-691X>

Н.Г. НЕСТЕРОВА,

доцент кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики,

<https://orcid.org/0000-0001-8366-2621>

Ю.В. КОЛОМІЄЦЬ,

професор кафедри екобіотехнології та біорізноманіття,

<http://orcid.org/0000-0002-1919-6336>

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Л.М. БУЦЕНКО,

старший науковий співробітник,

<http://orcid.org/0000-0002-3575-4289>

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

E-mail: julyja12345@gmail.com

Анотація. Помідор (*Lycopersicon esculentum* L.) є однією з найважливіших овочевих культур, що широко вирощуються в усьому світі. Проте глобальна економічна продуктивність цієї культури обмежується цілою низкою фітопатогенів. Бактеріальна крапчастість і м'яка гниль томатів, що викликається видами *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* і *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, є одними з найбільш поширених бактеріальних захворювань, що призводять до значних втрат і знижують як якість, так і кількість плодів та погіршують харчову цінність томатів. Рослини томатів уражуються даними збудниками впродовж усього вегетаційного періоду, ураження характеризується хлорозами, некрозами та гнилями.

Метою роботи був аналіз впливу на фізіолого-біохімічні показники паростків томатів ураження збудниками *P. syringae* pv. *tomato* та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*.

Встановлено, що штами *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 спричиняють зниження енергії проростання та схожості насіння томатів сорту Чорний принц, Північна королева, Загадка та Ляна на 30-

40 % порівняно з контролем. За аналізом фізіолого-біохімічних показників найбільш стійкий до збудників *P. syringae* pv. *tomato*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* сорт Північна королева. Обробка рослин томатів суспензією досліджуваних штамів зумовлює зменшення вмісту хлорофілів в проростках на 58-93 %. За співвідношенням хлорофілу *a/b* встановлено, що вищою стійкістю до бактеріального ураження володіють сорти Північна королева та Чорний принц. За впливу клітинних суспензій *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 відмічено зміни активності ферментів антиоксидантної системи в проростках томатів, що свідчить про зниження окисних процесів клітин.

Ключові слова: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, томати, хлорофіл, антиоксидантні ферменти

Вступ.

Томат – однорічна, трав'яниста культура родини Пасльонових, широко поширена в Україні та світі (Kornienko S.I., Rud V.P., 2015). Рослини томатів у процесі онтогенезу проходять декілька фаз, зокрема, появу сходів, першого справжнього листка, розростання надземної маси й коренів, утворення бруньок, цвітіння, формування й дозрівання плодів. За сприятливих умов у рослин у перші 2-3 тижні після сходів переважає ріст кореневої системи та повільне збільшення сім'ядольних листків (Akhatov A.K. et al., 2013). Причиною втрат врожаю томатів є ураження збудниками різної етіології, яке проявляється на різних етапах росту та розвитку. Втрати врожаю через ураження томатів збудниками бактеріальних хвороб можуть сягати 45% (Bohoslavets V.A. et al., 2020). Основними бактеріальними хворобами, які завдають значної шкоди посівам томатів є м'яка гниль томатів – збудник *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* та бактеріальна крапчастість – збудник *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

На початкових етапах ураження

збудник *P. syringae* pv. *tomato* виділяє ферменти, які спричиняють розпад целюлозних та пектинових речовин ураженої рослини, в результаті відбувається закупорення ксилемних судин (Drenova N.V. et al., 2013). Спостерігається розвиток хлоротичних і некротичних ділянок, зниження продукції фотосинтетичних асимілятів у проростках, що призводить до загибелі сходів. У фазі появи першого справжнього листа на краях відбувається утворення маслянистих плям, які просвічуються (Butsenko L. et al., 2017). Під час розростання рослини плями досягають 2 – 3 мм та мають жовтуватий або бурий ореол. На пізніх стадіях розвитку плями зливаються, листя скручується і відмирає. Рідше аналогічні симптоми з'являються на стеблах, живцях, пелюстках віночка та плодах (Kolomiets J.V. et al., 2017).

Одним із факторів патогенності збудника м'якої гнилі *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* є синтез пектиназ, які руйнують пектинові речовини серединних пластинок клітинних стінок рослин. У разі ураження молодих рослин до фази 5-го справжнього листка, а також сіянців бактерії

P. carotovorum subsp. *carotovorum* зумовлюють симптоми чорної ніжки

томата. Чорна ніжка проявляється впродовж усього періоду вегетації (Naas H. et al., 2018). Ураження рослин томатів у фазі сходів призводить до загибелі значної частини рослин, у фазі цвітіння можуть уражуватися окремі стебла, водночас решта куща вегетує, утворюючи інфіковані дрібні плоди. Уражені тканини стебла мають темно-коричневе або чорне забарвлення, симптоми розвиваються на прикореневій частині. На хворих рослинах жовтіють та скручуються листки й поступово засихають. Уражені рослини відстають у рості, листки на верхівці стебла зближуються, утворюється так звана скупчена верхівка (Garg A., Singh S. 2016).

Відомо, що в результаті бактеріального ураження у рослин розвивається окислювальний стрес як наслідок порушення балансу генерації активних форм кисню (АФК) і роботи антиоксидантної системи (Wang Y. et al., 2018). З відкриттям сигнальної і захисної ролі АФК особлива увага надається оксидоредуктазам, що регулюють їх рівень в клітині. Первинним бар'єром проти АФК виконує супероксиддисмутаза (СОД), яка каталізує дисмутацію радикалів $O_2^{\cdot-}$ і перешкоджає перетворенню супероксидного аніон-радикалу на гідроксильний радикал, що має високу токсичність. СОД служить акцептором вільних кисневих радикалів, що гальмує перекисне окиснення ліпідів та білків (Cantu D. et al., 2008).

Споживання молекулярного кисню клітинами супроводжується утворенням проміжних продуктів, такі як супероксид-аніон радикал ($O_2^{\cdot-}$), перекис водню (H_2O_2), і гідроксильний радикал ($HO^{\cdot}$). Перекис водню, в свою чергу, піддається дії каталази, яка перетворює H_2O_2 на кисень і воду.

У рослинах ізоформи каталази, локалізовані в пероксисомах та гліоксисомах клітин рослин. Крім того, відомо, що каталази у патогенній системі можуть ініціювати систему сумісності, знижуючи високі концентрації АФК, що продукуються рослиною як захисний механізм (Meena M. et al., 2016).

Наступним важливим ферментом антиоксидантної системи рослин є пероксидаза, яка є поліфункціональним ферментом і бере участь в окисно-відновних реакціях фотосинтезу, процесах дихання, метаболізмі білків і регулюванні ростових процесів рослини, що дозволяє їй оперативно реагувати на інфікування фітопатогенами. Пероксидаза утилізує АФК у реакціях полімеризації фенольних сполук з утворенням лігніну. Безпосередню участь в синтезі лігніну, що обмежує надходження поживних речовин до патогена в зоні його проникнення в тканини рослини, приймають участь аніонні пероксидази (Panstruga R. et al., 2009). У літературі зустрічається безліч даних щодо ролі антиоксидантної системи рослин в захисних механізмах томатів до бактеріального ураження, але питання залишається відкритим.

Метою дослідження є аналіз впливу на фізіолого-біохімічні показники паростків томатів ураження збудниками *P. syringae* pv. *tomato* та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*.

Матеріали та методи.

Матеріалом дослідження слугували штами *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207, виділені в господарствах Київської області з уражених рослин томатів, сорти томата української селекції Північна коро-

лева, Чорний принц, Загадка, Ляна, які характеризуються різною стійкістю до грибних хвороб.

Для виявлення дії штамів на енергію проростання і схожість насіння томатів замочували у клітинній суспензії штамів *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 1x10⁷ КУО/мл, за температури 20–22 °С, контроль – стерильна вода (Patyka V. et al., 2019). Визначали кількість пророслого насіння на 3, 5, 10 і 14 добу, масу та довжину сформованих проростків – на 14 добу. Кількість насіння, яке наклюнулось на 3-5 добу (перший облік) вважали за лабораторну енергію проростання, а які проросли через 10-14 діб (другий облік) – за схожість. Під час першого обліку візуально враховували наявність у насіння грибної і бактеріальної інфекції: обростання насіння міцелієм грибів або наявність на насінні бактеріального слизу або ексудату. Під час другого обліку проводили підрахунок насіння, що проросло, вимірювали довжину пагонів і корінців, а також підраховували індекс кореня (ІК) та індекс пагона (ІП):

$$ІК = ДКК / ДКД \times 100\%,$$

де ДКД – довжина кореня у досліді; ДКК – довжина кореня у контролі;

$$ІП = ДПК / ДПД \times 100\%,$$

де ДПД – довжина пагона у досліді; ДПК – довжина пагона у контролі.

Концентрацію хлорофілів у проростках рослин сортів томата визначали спектрофотометрично. Оптичну густину екстрактів вимірювали на сканувальному спектрофотометрі Optizen POP (Південна Корея), вміст

хлорофілу а за довжини хвилі 662 нм і хлорофілу b – 644 нм. Кількісний вміст хлорофілів розраховували за формулами Х. М. Починка (Pochinok H.N., 1976).

Активність пероксидази (КФ 1.11.1.7) визначали за методом А.М. Бояркіна, який базується на визначенні швидкості реакції окиснення бензидину до утворення продукту окиснення синього кольору. Наважку рослинного матеріалу масою 200–500 мг розтирали у фарфоровій ступці з водою або ацетатним буфером рН=5,4 і переносили у мірну колбу на 50 мл. Після 10 хв настоювання витяжку центрифугували за частоти 4000 об/хв. Вимірювання проводили з використанням червоного світлофільтра за довжини хвилі 590 нм. Активність пероксидази виражали в умовних одиницях густини на 1 г сирій маси за хвилину.

Вміст супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.11) визначали за ступенем інгібування відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) в присутності нікотинамідаденіндинуклеотиду (NADH) та феназинметасульфату (ФМС). До складу реакційної суміші входили 1,2 мл 0,15 М фосфатного буфера (рН – 7,8), 0,1 мл 0,160 мМ розчину ФМС, 0,3 мл 0,610 мМ розчину НСТ, 0,2 мл 1 мМ розчину NADH. Супернатант додавали до інкубаційної суміші в кількості 0,3 мл. Реакцію активували додаванням NADH і зупиняли через 1 хв додаванням 1 мл льодяної оцтової кислоти. Інтенсивність забарвлення вимірювали за довжини хвилі 540 нм. Активність виражали в умовних одиницях на 1 г сирій маси за хвилину (Ermakov A.I., 1982).

Активність каталази визначали титриметричним методом, заснованим на урахуванні кількості перокси-

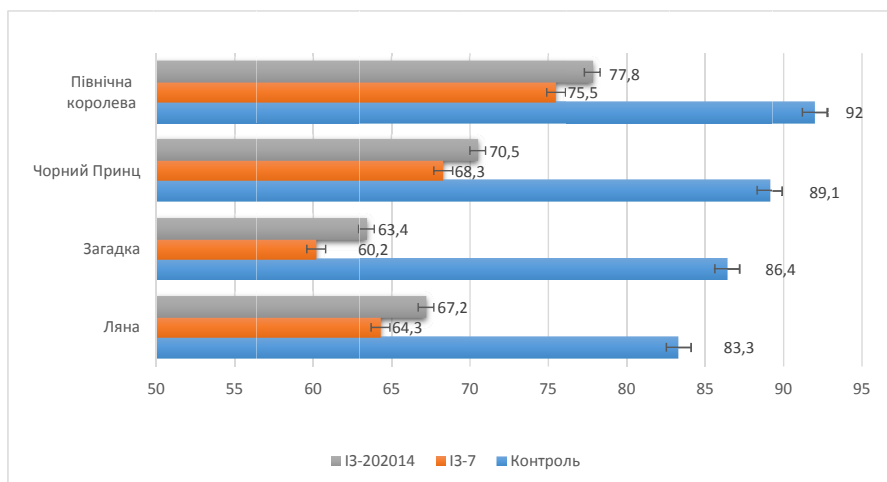


Рис. 1. Енергія проростання насіння досліджуваних сортів томатів на 7 добу.

ду водню, розкладеного під дією ферментного препарату. Час інкубації – від 20 до 30 хв. За різницею між контрольним та дослідним титруванням визначали кількість пероксиду водню, розкладеного за час інкубації, в розрахунку на 1 г вихідної рослинної речовини. Активність каталази виражали у мкМ за хвилину на 1 г сирової маси (Ermaikov A.I., 1982).

Статична обробка даних включала визначення середніх арифметичних, їх стандартні відхилення за допомогою програми Microsoft Excel. Достовірність відмінностей ($p \leq 0,05$) оцінювали за t-критерієм Стюдента.

Результати та обговорення.

Загальноприйнятою є оцінка проростання насіння та ріст проростків (Bolwell G.P. et al., 2002), оскільки найбільш чутливими до бактеріального стресу є початкові етапи онтогенезу рослин (Asma A. et al., 2015). З огляду на це, ми провели дослідження впливу клітинної суспензії шта-

мів *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 на енергію проростання і схожість насіння досліджуваних сортів томатів.

Встановлено, що енергія проростання насіння усіх сортів томатів на 7 добу в контролі становила 83,3–92,0 % (рис. 1).

У варіантах за обробки суспензією клітин *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 виявлено зниження енергії проростання насіння сортів томата від 60,2 до 75,5%, *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 – 63,4–77,8%. Енергія проростання насіння сорту Загадка за обробки клітинами штамів була найменшою, тоді як для сорту Північна королева енергія проростання сягала 75,5 % за обробки *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207, та 77,8 – *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014.

Схожість насіння як один з основних показників якості насіннєвого матеріалу значно впливає на врожайність. Досліджувані сорти

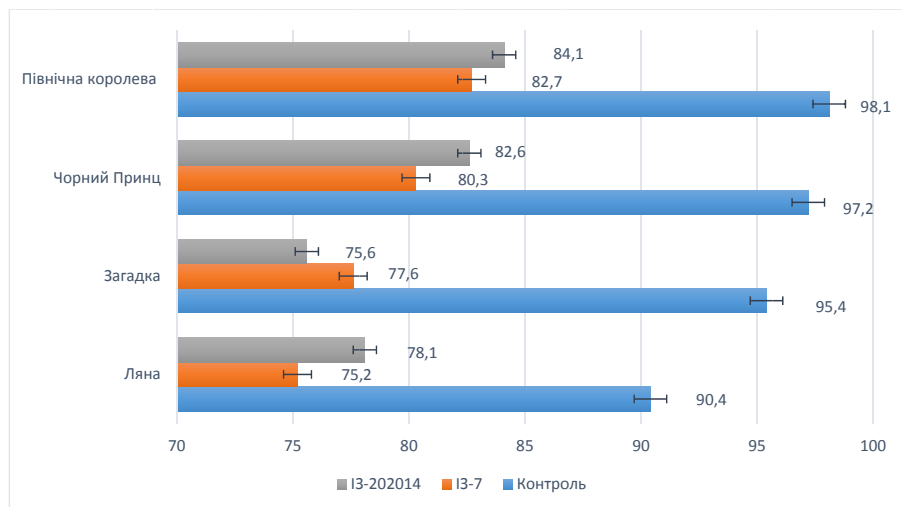


Рис. 2. Схожість насіння сортів томатів на 10 добу, %.

томата в контролі характеризувалися високою лабораторною схожістю, яка коливалася в межах від 90,4 до 98,1%. За обробки суспензією клітин *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 і *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 на 10 добу схожість насіння для даних сортів знизилася і становила 75,2-82,7 та 75,6-84,1 відповідно (рис. 2). Отже досліджувані сорти виявилися чутливими до збудників бактеріальної крапчастості і м'якої гнилі томатів.

За результатами вивчення впливу живих клітин штамів на енергію проростання і схожість насіння томатів досліджені сорти можна розділити на дві групи. Найбільш чутливими до збудника є сорти Загадка і Ляна. Найбільш стійким є сорти томатів української селекції Північна королева і Чорний принц.

Встановлено також пригнічення росту проростків рослин томатів досліджених сортів за оброблення насіння суспензією живих клітин *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*

IZ207 і *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 (табл. 1).

Живі клітини *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 найбільшою мірою знижували індекс кореня і пагона томатів досліджуваних сортів. Довжина корінця паростків за оброблення насіння чотирьох сортів живими клітинами *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 становила 16-55% від контролю (табл. 1). Сорти характеризувалися помірною чутливістю до збудника м'якої гнилі. Довжина кореня за оброблення насіння сортів живими клітинами *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 зменшувалася на 5-37% порівняно із контролем (рис. 3).

Індекс пагона є більш стабільною характеристикою, а його зміна має виражену сортову специфіку. Нами відмічено підвищену стійкість сорту Чорний принц (ІП – 71-95 %) до збудників м'якої гнилі та бактеріальної крапчастості томатів.

Обробка насіння живими клітинами бактерій призводила до змен-

1. Вплив штамів фітопатогенних бактерій на формування проростків томатів на 7 та 14 добу

Сорт	Варіант (штам)	7 доба		14 доба	
		Індекс кореня, %	Індекс пагона, %	Індекс кореня, %	Індекс пагона, %
Загадка	Контроль	100	100	100	100
	IZ202014	67	63	68	62
	IZ207	73	86	73	81
Ляна	Контроль	100	100	100	100
	IZ202014	45	46	44	53
	IZ207	79	63	42	52
Північна королева	Контроль	100	100	100	100
	IZ202014	79	72	83	63
	IZ207	59	74	61	67
Чорний принц	Контроль	100	100	100	100
	IZ202014	66	81	78	71
	IZ207	86	95	93	76

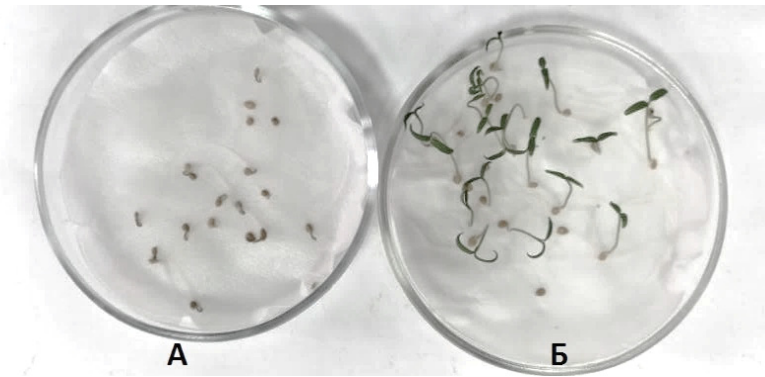


Рис. 3. Вплив *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* на рослини томатів сорт Ляна на 7 добу (А- IZ202014, Б- контроль)

шення сирі маси проростків порівняно з контролем (табл. 2). Величина зниження маси залежала від штаму: в варіантах з *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 показники були суттєво нижчі, ніж в варіанті з *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014.

Симптоми хвороби на проростках спостерігали на 10 добу після

обробки насіння живими клітинами збудника м'якої гнилі у вигляді первинних некрозів, які утворювалися в нижній частині стебла. Пошкоджені стебла ставали темно-бурими, на 14 добу починалася мацерація клітин. Збудник спричиняв потемніння судинної системи, ураження паренхіми та загибель сходів. За дії збудника

2. Маса проростків сортів томатів за дії штамів фітопатогенних бактерій

Сорт	Варіант (штам)	Маса проростків, мг	
		7 доба	14 доба
Загадка	Контроль	100±0,2	180±1,2
	IZ202014	53±1,2*	80±0,6*
	IZ207	42±0,1*	65±0,5*
Ляна	Контроль	52±1,2	72±0,2
	IZ202014	30±0,7*	42±0,7*
	IZ207	31±0,8*	45±0,8*
Північна королева	Контроль	46±1,2	67±0,9
	IZ202014	36±0,3*	50±0,1*
	IZ207	34±0,7*	49±0,6*
Чорний принц	Контроль	38±0,2	61±0,2
	IZ202014	28±0,7*	45±0,2*
	IZ207	31±0,1*	52±2,0*

Примітка: * – зазначено статистично достовірні відмінності між експериментом і контролем ($p < 0,05$)

бактеріальної крапчастості зазначали типові симптоми, зокрема утворення некротизованих та хлорозних ділянок, які були оточені жовтою окантовкою, уражені зони зливалися, листки скручувалися і відмирили (рис. 4).

Проникнення в тканини збудників бактеріозів спричиняє зміни



Рис. 4. Симптоми рослин томатів сорту Загадка за ураження *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* на 14 добу

інтенсивності дихання і фотосинтезу і активності ряду окисно-відновних ферментів. У здорових рослинах ефективність проходження процесу фотосинтезу залежить від кількісного вмісту зелених пігментів у листках та співвідношення їхніх форм (Filimon R.V. et al., 2016). Співвідношення вмісту хлорофілу а до хлорофілу b визначає структурну організацію хлоропластів і потенціал адаптації рослини до бактеріального ураження.

Для вивчення змін фотосинтетичного апарату томатів за дії збудників бактеріальної крапчастості і м'якої гнилі ми дослідили концентрації хлорофілів у листках дослідних рослин. Уміст хлорофілу а в листках томатів досліджуваних сортів за обробки суспензії клітин *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 знижувався на 2,47–19,80%, за обробки суспензії клітин

P. carotovorum subsp. *carotovorum* IZ207 – 6,53–29,87% (табл. 3).

3. Уміст пігментів в проростках томатів під дією фітопатогенних бактерій

Варіант (штам)	Хлорофіли, мг/г		Сума хлорофілів	a/b
	а	б		
Сорт Ляна				
Контроль	6,04±0,05	2,55±0,02	8,92±0,02	2,10
IZ202014	5,12±0,04*	1,73±0,04*	6,85±0,03*	2,96
IZ207	4,86±0,02*	1,70±0,03*	6,56±0,01*	2,86
Сорт Чорний принц				
Контроль	6,28±0,06	2,75±0,07	9,03±0,01	2,28
IZ202014	5,98±0,04*	2,34±0,03*	8,32±0,05*	2,55
IZ207	5,87±0,05*	2,23±0,02*	8,10±0,02*	2,63
Сорт Загадка				
Контроль	5,86±0,01	2,52±0,03	8,38±0,03	2,33
IZ202014	4,70±0,06*	1,66±0,02*	6,36±0,02*	2,83
IZ207	4,11±0,09*	1,52±0,03*	5,63±0,04*	2,70
Сорт Північна королева				
Контроль	6,08±0,06	2,88±0,02	8,63±0,02	2,38
IZ202014	5,93±0,04*	2,28±0,03*	8,21±0,04*	2,60
IZ207	5,40±0,03*	2,02±0,01*	7,42±0,03*	2,67

Примітка: * – зазначено статистично достовірні відмінності між експериментом і контролем ($p < 0,05$)

У листках проростків томатів за дії суспензії клітин *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 концентрація хлорофілу b зменшувалася на 10,59-38,55 %, тоді як за дії *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 – 11,51-40,98 %.

Проростки більшості вищих рослин містять хлорофілу a вдвічі більше, ніж хлорофілу b (Song G., Wang Q., 2022). Чим вищий вміст хлорофілу b у листках рослин, тим вищим є їхній адаптивний потенціал до бактеріального ураження та стабільніша пігментна система. Найвищим співвідношенням хлорофілу a/b, а відповідно й найнижчою стійкістю до досліджуваних штамів, характеризуються сорти Ляна та Загадка; вищою стійкістю до бактеріального уражен-

ня відзначаються сорти Північна королева та Чорний принц.

Одним із найефективніших способів захисту рослин від ураження фітопатогенами є локальна генерація активних форм кисню (окислювальний вибух). Ключову роль у регуляції кількості активних форм кисню відіграє антиоксидантна система, яка запобігає окисленню внутрішньоклітинних органічних речовин. У системній фітостійкості основна функція належить компонентам антиоксидантної системи – пероксидазі, каталазі та супероксиддисмутазі. Дія цих ферментів спрямована на зниження рівня окиснювального стресу, що так само запобігає або усуває негативні наслідки його дії.

4. Активність окисних ферментів за дії фітопатогенних бактерій

Варіант	7 доба			14 доба		
	каталаза	супер-оксид-дисмутаза	пероксидаза	каталаза	супер-оксид-дисмутаза	пероксидаза
Сорт Ляна						
Контроль	0,19±0,006	0,49±0,005	0,33±0,003	0,14±0,010	0,44±0,005	0,20±0,051
IZ202014	0,37±0,009*	0,75±0,006*	0,56±0,008*	0,34±0,003*	0,51±0,003*	0,44±0,004*
IZ207	0,35±0,04*	0,60±0,001*	0,49±0,007*	0,33±0,008*	0,52±0,008*	0,40±0,003*
Сорт Загадка						
Контроль	0,16±0,006	0,58±0,001	0,42±0,002	0,15±0,003	0,47±0,001	0,36±0,009
IZ202014	0,25±0,008*	0,76±0,002*	0,60±0,005*	0,17±0,003*	0,52±0,005*	0,53±0,005*
IZ207	0,23±0,002*	0,74±0,007*	0,48±0,008*	0,18±0,002*	0,55±0,003*	0,41±0,004*
Сорт Чорний принц						
Контроль	0,18±0,005	0,44±0,005	0,33±0,003	0,17±0,010	0,38±0,004	0,19±0,051
IZ202014	0,60±0,003*	0,47±0,004*	0,60±0,003*	0,40±0,003*	0,44±0,003*	0,46±0,002*
IZ207	0,68±0,004*	0,56±0,001*	0,46±0,005*	0,43±0,001*	0,50±0,001*	0,54±0,003*
Сорт Північна королева						
Контроль	0,20±0,006	0,56±0,004	0,45±0,002	0,16±0,001	0,53±0,001	0,34±0,005
IZ202014	0,65±0,008*	0,68±0,002*	0,59±0,003*	0,45±0,004*	0,51±0,004*	0,60±0,004*
IZ207	0,68±0,002*	0,72±0,004*	0,62±0,005*	0,38±0,002*	0,55±0,003*	0,56±0,002*

Примітка: * - зазначено статистично достовірні відмінності між експериментом і контролем ($p < 0,05$)

За дії суспензії клітин *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 на 7 добу каталазна активність у листках проростків досліджуваних сортів достовірно підвищується в 1,13–5,41 раза, за дії *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 – 1,07–5,66 раза (табл. 4). На 14 добу підвищення каталазної активності не перевищувало в 3,2 раза.

Установлено зростання активності супероксиддисмутази у листках проростків томатів за дії суспензії клітин *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 в 1,18–1,37 рази. Найсуттєвіше цей показник збільшується для сорту Північна королева внаслідок дії живих клітин *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207.

Пероксидазна активність за дії суспензії клітин *P. syringae* pv. *tomato*

IZ-2022014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 в листках проростків досліджуваних сортів томата підвищується на 7 добу в 1,14–1,81 рази та дещо знижується на 14 добу експерименті і контролі, що свідчить про активну утилізацію АФК в перші 3–7 діб, потім необхідність у пероксидазі відпадає і вона починає знижуватися.

Причому підвищення активності ферментів не було однаковим у рослин з різним ступенем стійкості до збудників, що вказує на більшу стійкість мембран і ефективність дії антиоксидантних систем у сорту томата Північна королева за бактеріального стресу.

Аналіз рівня антиоксидантних ферментів у відповідь на бактеріальне ураження вказує на активацію

захисного потенціалу рослин томатів. У роботах (Dumanović J. et al., 2021), індукція синтезу пероксидаз, супероксиддесмутаза та каталазу відіграє основну роль у формуванні стійкості рослин до збудників бактеріальних хвороб завдяки регуляції рівня АФК. Згідно з даними Yang W. та інших (Yang W., Francis D.M. 2006) активність антиоксидантних ферментів можна використовувати як маркер стійкості рослин до патогенів.

Останнім часом причиною втрати врожаю томатів є ураження збудниками бактеріальних хвороб, особливо на початкових етапах онтогенезу (Kolomiets J.V. et al., 2017). За бактеріального ураження рослини томатів затримуються в рості, зменшується кількість плодів, погіршується якість продукції та знижується врожайність. Активация окислювальних процесів є основною захисною реакцією на ураження патогенами. Ключову роль у запобіганні пошкодженням окисного характеру відіграють універсальні та найважливіші для рослин ферментативні та неферментативні системи деструкції АФК. Антиоксидантна система включає антиоксидантні ферменти та низькомолекулярні сполуки (Nikoo F.S. et al., 2014).

Енергія проростання і абсолютна схожість насіння є основними інтегральними показниками процесів росту та розвитку за умов перетворення зародку у проросток (Kolomiets J.V. et al., 2016). Проростання насіння впливає на отримання своєчасних і дружніх сходів рослин томата. Від неї залежить енергія проростання, тривалість фаз онтогенезу, формування пагонів та наростання вегетативної маси (Kuzmenko V.I., 2015). Проведені дослідження біометричних показників рослин томатів

за дії *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 показали, що в середньому енергія проростання і схожість досліджуваних сортів Північна королева, Ляна, Загадка, Чорний принц знижувалась на 20–25 %, маса проростків – 40 %. Результати досліджень свідчать про негативний вплив фітопатогенних бактерій на біометричні показники рослин, спостереження за розвитком рослин підтверджують необхідність пошуку нових засобів і способів захисту посівів від збудників бактеріальної крапчастості і м'якої гнилі томатів.

Потужність асиміляційного апарату і тривалість його роботи є вирішальними чинниками продуктивності фотосинтезу, який зумовлює кількісні та якісні показники врожаю. Дослідженнями Cannella D. та ін. виявлено тісний зв'язок процесів функціонування фотосинтетичного апарату і фізіологічного стану рослини як індикатора стійкості рослин до фітопатогенів (Cannella D. et al., 2016). За дії фітопатогенів спостерігаються зміни функціонування рослин томатів, які порушують продукційний процес через пригнічення активності меристематичних тканин, що призводить до формування малих за розміром рослин, та недостатньо сформований листковий апарат, що сприяє поширенню збудників (Yang W., Francis D.M. 2006).

У досліджуваних сортів томатів вміст хлорофілів а коливався в межах 4,40 – 5,92 мг/л, хлорофіл b – 1,59 – 2,28 мг/л. Ураження рослин бактеріальними інфекціями істотно впливає на вміст хлорофілів а і b, який може знижуватися утричі порівняно зі здоровими рослинами (Cannella D. et al., 2016), що є типовою реак-

ція на дію фітопатогенів (Köhl J. et al., 2019). В наших дослідженнях за обробки *P. syringae* pv. *tomato* та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* спостерігалось зниження хлорофілу а та б на 10–40 %, що свідчило про нестабільну роботу фотосинтетичної системи та призводило до в'янення проростків рослин томатів.

Вплив фітопатогенних бактерій спричиняє у рослин розвиток окисного стресу, який так само спричиняє руйнування мембранних білків та зміну активності ферментів й їхніх ізоформ. Ключову роль в регуляції кількості АФК в клітинах відіграє антиоксидантна система захисту, основна функція якої полягає в уповільненні і запобіганні окиснення внутрішньоклітинних органічних речовин (Nowogórska A., Patykowski J., 2014).

В наших дослідженнях, обробка *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 спричиняла достовірне підвищення активності супероксиддисмутази, каталази та пероксидази в листках рослин томатів. Чисельні дослідження показали, що різні ферменти антиоксидантного захисту беруть участь у захисті рослин під час абіотичного та біотичного стресу (Kholova J. et al., 2009). Ми показали, що висока активність СОД була виявлена у всіх сортів в результаті високого накопичення АФК, оскільки СОД забезпечує першу лінію захисту від окислювального стресу (Meena M. et al., 2016) і бере участь у дисмутації O_2^{2-} в H_2O_2 і O_2 (Treutter D., 2006). Підвищена активність САТ упродовж 7 діб свідчить про видалення надлишку H_2O_2 (Mittler R., 2002). Зниження активності САТ на 14 добу пов'язане з надлишковою продукцією та нако-

пиченням H_2O_2 і це зниження може бути пов'язане з посиленням протеолізом, викликаним пероксисомальними ендопептидазами, індукованими окислювальним стресом (Palma J. M. et al., 2002). Debona D. et al. (2012) порівняли викликані патогенами біохімічні зміни у стійких (BRS229) та сприйнятливих (BRS18) сортах пшениці та виявили, що активність САТ була більш помітною у стійких сортах, що підтверджує роль САТ у забезпеченні стійкості до хвороб.

Отже, тривала підвищена активність антиоксидантних ферментів порівняно з контролем вказує на те, що вони відіграють ключову роль у підтримці постійного рівня O_2^{2-} та H_2O_2 під час процесу інфікування патогеном, щоб забезпечити стійкість до патогенів та їхніх токсинів, тим самим обмежуючи клітинні ушкодження, спричинені молекулами АФК.

Висновки та перспективи подальших досліджень.

Штами *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 спричиняють зниження енергії проростання та схожості насіння рослин томатів сорту Чорний принц, Північна королева, Загадка та Ляна на 30-40 % порівняно з контролем. За аналізом фізіолого-біохімічних показників найбільш стійкий до збудників *P. syringae* pv. *tomato*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* виявився сорт Північна королева. Обробка рослин томатів суспензією досліджуваних штамів зумовлює зменшення вмісту хлорофілів в проростках томата на 58-93 %. За співвідношенням хлорофілу а/б встановлено, що вищою стійкістю до бактеріального ураження володі-

ють сорти Північна королева та Чорний принц. За впливу клітинних суспензій штамів *P. syringae* pv. *tomato* IZ202014 та *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 відмічено зміни активності ферментів антиоксидантної системи у проростках томатів, що свідчить про зниження окисних процесів клітин.

References

1. Kornienko S.I., Rud V.P. (2015) The main provisions of the sectoral comprehensive program "Vegetables of Ukraine - 2020" Vegetable and melon growing. 61: 17–33.
2. Akhatov, A.K., Hannibal, F.B., Meshkov, Yu.I., Dzhalilov, F.S., Chizhov, V.N., Ignatov, A.N., Polishchuk, V.P., Shevchenko, T.P., Borisov, B.A., Stroykov, Y.M. & Beloshapkina, O.O. (2013) Diseases and pests of vegetable crops and potatoes. Moscow, 446 p.
3. Bohoslavets V.A., Kolomiets Yu.V., Butsenko L.M., Bohdan Yu.M. (2020) Bacterial rot of tomatoes when grown in a protected ground. Biological systems: theory and innovation. 11(3): 52–62. <http://dx.doi.org/10.31548/biologiya.2020.03.006>
4. Drenova N.V., Isin M.M., Dzhaymurzina A.A. (2013) Bacterial fire of fruit crops in the Republic of Kazakhstan. plant quarantine. 3: 39–48.
5. Butsenko, L., Pasichnyk, L., Buletsa, N., Patyka, V. (2017) Effect of insecticide Alpha Super on phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* of agrophytocenosis of wheat. Bull. Agric. Sci., 3: 18–22.
6. Kolomiets, J.V., Grygoryuk, I.P. & Butsenko, L.M. (2017) Bacterial diseases of tomatoes plant in terms of open and covered growing of Ukraine. Annals of Agrarian Science, 15(2): 213–216. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2017.05.010>
7. Naas, H., Sebaihia, M., Orfei, B., Rezzonico, F., Buonauro, R. & Moretti, C. (2018) *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* as causal agents of potato soft rot in Algeria. European Journal of Plant Pathology, 151: 1027–1034. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1438-3>
8. Garg, A., and Singh, S. (2016) *Alternaria* species in aerospora of vegetable and fruit market at Agra and their mycotoxigenic potential. Asian J. Agric. Life Sci. 1: 4–7.
9. Wang, Y., Zhang, Y., Gao, Z., Yang, W. (2018) Breeding for Resistance to Tomato Bacterial Diseases in China: Challenges and Prospects. Hortic. Plant J., 4: 193–207. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2018.08.004>
10. Cantu D., Vicente A., Labavitch J., Bennett A., Powell A. (2008) Strangers in the matrix: plant cell walls and pathogen susceptibility. Trends Plant Sci. Nov, 13(11): 610–7. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.09.002>
11. Meena M., Zehra A., Dubey M.K., Aamir M., Gupta V.K., Upadhyay R.S. (2016) Comparative evaluation of biochemical changes in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) infected by *Alternaria alternata* and its toxic metabolites (TeA, AOH, and AME). Front. Plant Sci. 7: 1408. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01408>
12. Panstruga R., Parker J.E., Schulze-Lefert P. (2009) SnapShot: plant immune response pathways. Cell. 136: 976–978. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.02.020>
13. Patyka, V., Pasichnyk, L., Butsenko, L., Petrychenko, V., Zubachev, S., Dankevych, L., Gnatuk, T., Huliaieva, H., Tokovenko, I., Kalinichenko, A., Suszanowich, D., Kurash, P., Patyka, T., Karpenko, V., Kirilenko, L. & Demchenko, A. (2019) Express diagnostics of phytopathogenic bacteria and phytoplasmas in agrophytocenosis. Guidelines. Publisher Wydawnictwo I Drukarnia Swietego Krzyza, Opole, Poland, 86 p.
14. Pochinok, H. N. (1976). Methods of biochemical analysis of plants. Kyiv, Naukova Dumka, 334 p.
15. Methods of biochemical research of plants.

- Ed. A.I. Ermakov. 3rd ed., revised. and additional. L., Agropromizdat, 1982. 551 p.
16. Bolwell, G. P., Bindschedler, L. V. & Blee, K. A. (2002) Apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a tree-component system. *Journal of Experimental Botany*, 53(372): 1367–1376. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1367>
 17. Asma, A., Musharaf, A., Azra, N., Sana, Z.K. & Zahoor, A. (2015) Characterization of the causal organism of soft rot of tomatoes and other vegetables and evaluation of its most aggressive isolates, 6: 511–517. <https://doi.org/10.4236/ajps.2015.64055>
 18. Bestwick, C. S., Brown, I. R., Bennett, M. H., Mansfield, J. W. (1997). Localization of hydrogen peroxide accumulation during the hypersensitive reaction of lettuce cells to *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*. *The Plant Cell*, 9(2), 209–221.
 19. Filimon, R.V., Rotaru, L., Filimon, R.M. (2016) Quantitative investigation of leaf photosynthetic pigments during annual biological cycle of *Vitis vinifera* L. table grape cultivars. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 37: 1–14. doi:10.21548/37-1-753
 20. Song G., Wang Q. (2022) Developing hyperspectral indices for assessing seasonal variations in the ratio of chlorophyll to carotenoid in deciduous forests. *Remote Sens.* 14(6): 1324. <https://doi.org/10.3390/rs14061324>
 21. Dumanović J., Nepovimova E., Natić M., Kuča K., Jačević V. (2021) The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview. *Frontiers in Plant Science.* 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.552969>
 22. Yang, W., & Francis, D.M. (2006) Genetics and Breeding for Resistance to Bacterial Diseases in Tomato. V. 4. P. 193–207. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2018.08.004>
 23. Nikoo F.S., Sahebani N., Aminian H., Mokhtarnejad L., Ghaderi R. (2014) Induction of systemic resistance and defense-related enzymes in tomato plants using *Pseudomonas fluorescens* CHAO and salicylic acid against root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Journal of Plant Protection Research* 54 (4): 383–389. <https://doi.org/10.2478/jppr-2014-0057>
 24. Kolomiets, J., Grygoryuk, I., & Butsenko, L. (2016). Pre-sowing treatment of seeds with biofertilizers as a means of stimulating growth and physiological and biochemical processes in tomato varieties. *Scientific reports of NULES of Ukraine*, 62(5). <http://dx.doi.org/10.31548/dopovidi2016.05.010>
 25. Kuzmenko V.I. (2015) Influence of presowing treatment of tomato seeds on their sowing qualities and disease susceptibility. *Vegetables.* 1 (26): 60–63.
 26. Cannella, D., Möllers, K. B., Frigaard, N.-U., Jensen, P. E., Bjerrum, M. J., Johansen, K. S., & Felby, C. (2016). Light-driven oxidation of polysaccharides by photosynthetic pigments and a metalloenzyme. *Nature Communications.* 7 (1). doi: 10.1038/ncomms11134
 27. Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Frontiers in plant science*, 10, 845. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>
 28. Nowogórska A., Patykowski J. (2014) Selected reactive oxygen species and antioxidant enzymes in common bean after *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* and *Botrytis cinerea* infection. *Acta Physiologiae Plantarum.* 37(1). doi:10.1007/s11738-014-1725-3
 29. Kholova J., Sairam R. K., Meena R. C., Srivastava G. C. (2009). Reponse of maize genotypes to salinity stress in relation to osmolytes and metal-ions contents, oxidative stress and antioxidant enzymes activity. *Biol. Plant.* 53: 249–256. doi:10.1007/s10535-009-0047-6
 30. Treutter D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance. *Environ. Chem. Lett.* 4: 147–157. doi:10.1007/s10311-006-0068-8

31. Mittler R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7 405–410. 10.1016/S1360-1385(02)02312-9
32. Palma J. M., Sandalio L. M., Corpas F. J., Romero-Puertas M. C., McCarthy I., del Río L. A. (2002). Plant proteases, protein degradation, and oxidative stress: role of peroxisomes. Plant Physiol. Biochem. 40: 521–530. doi:10.1016/S0981-9428(02)01404-3
33. Debona D., Rodrigues F. A., Rios J. A., Nascimento K. J. T. (2012). Biochemical changes in the leaves of wheat plants infected by *Piricularia oryzae*. Phytopathology. 102: 1121–1129. doi:10.1094/PHYTO-06-12-0125-R

**V. Bogoslavets, N. Nesterova, Yu. Kolomiets, L. Butsenko (2022).
PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHANGES OF TOMATO PLANTS UNDER
BACTERIAL INFLUENCE**

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 13(1-2): 35-49.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/article/view/16270>

[https://doi.org/10.31548/biologiya13\(1-2\).2022.009](https://doi.org/10.31548/biologiya13(1-2).2022.009)

Abstract. Tomato (*Lycopersicon esculentum* L) is one of the most important vegetable crops widely grown around the world. However, the global economic productivity of this crop is limited to a number of phytopathogens. Bacterial spotting and mild rot of tomatoes caused by *Pseudomonas syringae* pv. tomato and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, are one of the most common bacterial diseases that cause significant losses and reduce both the quality and quantity of fruits and impair the nutritional value of tomatoes. Tomato plants are affected by these pathogens throughout the growing season, the lesion is characterized by chlorosis, necrosis and rot.

The aim of the study was to analyze the impact on the physiological and biochemical parameters of tomato sprouts affected by pathogens of *P. syringae* pv. tomato and *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*.

It was found that strains of *P. syringae* pv. tomato IZ202014 and *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 cause a 30-40% decrease in germination energy and seed germination of Black Prince, Northern Queen, Riddle and Liana tomatoes compared to the control. According to the analysis of physiological and biochemical parameters, the most resistant to pathogens *P. syringae* pv. tomato, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* variety Northern Queen. Treatment of tomato plants with a suspension of the studied strains causes a decrease in chlorophyll content in seedlings by 58-93%. According to the chlorophyll a/b ratio, the Northern Queen and Black Prince varieties have the highest resistance to bacterial damage. Under the influence of cell suspensions of *P. syringae* pv. tomato IZ202014 and *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* IZ207 showed changes in the activity of enzymes of the antioxidant system in tomato seedlings, which indicates a decrease in the oxidative processes of cells.

Key words: *Pseudomonas syringae* pv. tomato, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, tomatoes, chlorophyll, antioxidant enzymes.