

ВЛИЯНИЕ β -1,3-ГЛЮКАНА НА ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ФУЗАРИОЗНОМ УВЯДАНИИ

С. Н. ШПИЛЕВСКИЙ¹⁾, И. Н. ДОМАНСКАЯ¹⁾, В. И. ЛУКША¹⁾, Л. Ф. КАБАШНИКОВА¹⁾

¹⁾Институт биофизики и клеточной инженерии, Национальная академия наук Беларуси,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

К объективным причинам значительного снижения урожая культуры томата можно отнести заражение возбудителями грибных болезней. В этой связи изучение структурно-функциональных особенностей инфицированного растения представляет важный этап на пути выяснения механизмов устойчивости и создания системы эффективной защиты от болезней грибной этиологии. Изучено влияние препарата, включающего β -1,3-глюкан и водорастворимый полимер на основе сополимера акриламида с акрилатом натрия (ВРП), на развитие патогенного гриба *Fusarium oxysporum* sp. (*Fus. oxu.*) на твердой среде Чапека. В лабораторных условиях исследовано формирование защитных реакций, протекающих в листьях 60-дневных растений томата (*Lycopersicon esculentum* Mill., сорт Тамара) при искусственном фузариозном заражении. Оценка влияния β -1,3-глюкана и ВРП на рост грибного мицелия свидетельствует, что площадь колоний гриба увеличивается по отношению к контрольному варианту в 4,0 и 4,7 раза соответственно, следовательно, эти соединения не обладают антифунгальной активностью и, более того, стимулируют рост колоний гриба *in vitro*. Защитное действие препарата, содержащего β -1,3-глюкан и водорастворимый полимер, изучено путем предварительного опрыскивания растений томата, которые переносили из почвенной культуры на водопроводную воду и инфицировали спорами гриба *Fus. oxu.* через корневую систему. Обнаружено, что обработка растений томата β -1,3-глюканом индуцирует защитные реакции, которые характеризуются повышением содержания активных форм кислорода, полифенолов и антоцианов на фоне увеличения экспрессии генов PR-белков – β -1,3-глюканазы (*Glu*) и хитиназы (*Chi*) в листьях томата при инфицировании *Fus. oxu.* Количественный анализ содержания фотосинтетических пигментов показал, что патогенный гриб оказывает негативное действие на пигментный аппарат, снижая содержание хлорофиллов и каротиноидов в листьях томата, тогда как предварительная обработка растений препаратом, включающим β -1,3-глюкан и ВРП, способствует существенному увеличению содержания фотосинтетических пигментов. Полученные результаты создают научную основу для использования β -1,3-глюкана в овощеводстве для повышения болезнеустойчивости растений томата.

Ключевые слова: томаты; активные формы кислорода; полифенолы; хлорофилл; каротиноиды; хитиназа; глюканаза; *Fusarium oxysporum* sp.

Благодарность. Авторы выражают благодарность Ю. А. Сущевиц – кандидату сельскохозяйственных наук, заведующему лабораторией иммунитета Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр земледелия Национальной академии наук Беларуси» за предоставленную культуру гриба *Fus. oxu.*, консультации по её выращиванию и процедуре инокуляции растений томата. Работа выполнена в рамках Государственной программы «Наукоемкие технологии и техника» на 2016–2020 годы.

Образец цитирования:

Шпилевский СН, Доманская ИН, Лукша ВИ, Кабашикова ЛФ. Влияние β -1,3-глюкана на защитные реакции растений томата при фузариозном увядании. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2024;3:49–58.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2024-3-49-58>

For citation:

Shpileuski SN, Domanskaya IN, Loucsha VI, Kabashnikova LF. β -1,3-glucan effect on the defence reaction of tomato leaves under fusarium wilt. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2024;3:49–58. Russian.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2024-3-49-58>

Авторы:

Святослав Николаевич Шпилевский – научный сотрудник лаборатории прикладной биофизики и биохимии.

Ирина Николаевна Доманская – кандидат биологических наук, доцент; старший научный сотрудник лаборатории прикладной биофизики и биохимии.

Виктория Ивановна Лукша – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник лаборатории прикладной биофизики и биохимии.

Людмила Федоровна Кабашикова – член-корреспондент НАН Беларуси; доктор биологических наук, доцент; заведующий лабораторией прикладной биофизики и биохимии.

Authors:

Sviataslau N. Shpileuski, researcher at the laboratory for applied biophysics and biochemistry.

metanova@mail.ru

Irina N. Domanskaya, PhD (biology), docent; senior researcher at the laboratory for applied biophysics and biochemistry.

domanin07@mail.ru

Victoria I. Loucsha, PhD (biology); senior researcher at the laboratory for applied biophysics and biochemistry.

saphyjana2@gmail.com

Liudmila F. Kabashnikova, corresponding member of the National Academy of Sciences, Belarus; doctor of science (biology), professor; head of the laboratory for applied biophysics and biochemistry.

kabashnikova@mail.ru

B-1,3-GLUCAN EFFECT ON THE DEFENCE REACTION OF TOMATO LEAVES UNDER FUSARIUM WILT

S. N. SHPILEUSKI^a, I. N. DOMANSKAYA^a, V. I. LOUCSHA^a, L. F. KABASHNIKOVA^a

^a*Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademichnaja Street, 27, Minsk 220072, Belarus*

Corresponding author: Kabashnikova L. F. (kabashnikova@mail.ru)

Objective reasons for a significant reduction in tomato crop yield include infection with pathogens of fungal diseases. In this regard, the study of the structural and functional characteristics of an infected plant represents an important step towards elucidating the mechanisms of resistance and creating a system of effective protection against diseases of fungal etiology. The effect of a drug containing β -1,3-glucan and a water-soluble polymer (WSP) based on a copolymer of acrylamide with sodium acrylate on the development of the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum* sp. (*Fus. oxy.*) on solid Czapek medium was studied. The formation of protective reactions occurring in the leaves of 60-day-old tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill., variety Tamara) during artificial *Fusarium* infection was studied under laboratory conditions. An assessment of the effect of β -1,3-glucan and WSP on the growth of fungal mycelium showed that the area of fungal colonies increases relative to the control variant by 4.0 and 4.7 times, respectively, therefore these compounds do not have antifungal activity and, moreover, stimulate the growth of fungal colonies in vitro. The protective effect of a preparation containing β -1,3-glucan and WSP was studied by pre-spraying tomato plants that were transferred from soil culture to tap water and infected with spores of the fungus *Fus. oxy.* through the root system. It was found that treatment of tomato plants with β -1,3-glucan induces protective reactions, which are characterized by an increase in the content of reactive oxygen species, polyphenols and anthocyanins against the background of an increase in the expression of genes for PR proteins – β -1,3-glucanase (*Glu*) and chitinase (*Chi*) in tomato leaves during infection with *Fus. oxy.* Quantitative analysis of the content of photosynthetic pigments showed that the pathogenic fungus has a negative effect on the pigment apparatus, reducing the content of chlorophylls and carotenoids in tomato leaves, while pre-treatment of plants with a preparation including β -1,3-glucan and WSP contributes to a significant increase in the content of photosynthetic pigments. The results obtained provide a scientific basis for the use of β -1,3-glucan in crop production to improve the disease resistance of tomato plants.

Keywords: tomato; reactive oxygen species; polyphenols; chlorophyll; carotenoids; glucanase; chitinase; *Fusarium oxysporum* sp.

Acknowledgements. The authors thanks Sushchevich Yuliya, – PhD (agriculture), Head of the Immunity Laboratory, the Republican Unitary Enterprise «Research and Practical Centre for Arable Farming of the National Academy of Sciences of Belarus» for the fungus culture *Fus. oxy.* and consultation with respect to its cultivation and the tomato plant inoculation procedure. The work was funded by the State Program «High Technology and Technic» for 2016–2020.

Введение

К объективным причинам значительного снижения урожая важнейших овощных культур можно отнести заражение возбудителями грибных болезней. Одной из первоочередных задач современной биологии является выявление путей формирования устойчивости растений к патогенным микроорганизмам. Установлено, что уровень устойчивости растений к фитозаболеваниям обеспечивается многими физиолого-биохимическими показателями, отвечающими за перестройку метаболизма растений и сохранение жизнеспособности в стрессовых условиях [1]. В этой связи изучение структурно-функциональных особенностей инфицированного растения представляет важный этап на пути познания природы их устойчивости к патогенным микроорганизмам и создания системы критериев оценки болезнеустойчивости.

Фузариозы – болезни множества культурных и дикорастущих растений, вызываемые несовершенными грибами рода *Fusarium*, выявляются во всех климатических зонах. На томатах и других пасленовых культурах фузариозное увядание широко распространено [2]. Комплекс мер борьбы с болезнями растений, наряду с использованием устойчивых сортов, включает ряд химических методов защиты [3]. Однако интенсивное применение пестицидов для подавления грибной инфекции приводит, с одной стороны, к химическому загрязнению экосистем, а с другой – к появлению высокорезистентных к пестицидам форм фитопатогенов.

В этой связи остро встает проблема поиска средств повышения общей неспецифической устойчивости растений (иммунного статуса) к неблагоприятным факторам биотической и абиотической природы путем индукции природных защитных механизмов. К препаратам нового поколения можно отнести глюканы, которые выполняют роль сигнальных молекул, обладают элиситорными свойствами и способны активировать гены устойчивости, приводящие к синтезу глюканаз и других фитоалексинов [4]. Классический элиситор гепта- β -глюкозид, изолированный из клеточной стенки оомицетного гриба *Phytophthora sojae* f. sp. *Glycinea* (патогена сои), в диапазоне концентраций от 10^{-8} до 10^{-9} М индуцировал накопление

фитоалексинов в семядолях люцерны [5]. β -глюкановый элиситор, изолированный из клеточных стенок мицелия гриба *Phytophthora colocasiae*, способен индуцировать устойчивость к увяданию листьев разных сортов колоказии при инфицировании этим патогеном [6].

Установлено, что β -1,3-глюканы вызывают целый спектр различных защитных реакций в растениях табака [7], арабидопсиса [8], риса [9], бобовых [10] и винограда [11]. Для винограда показано, что обработка листьев сульфатом β -1,3-глюкана запускает активацию сигнальных путей с участием ионов Ca^{2+} , накопление АФК, жасмоната и салицилата, МАРК-активность, индукцию хитиназ класса 3, глюконаз класса 2, белков, переносящих липиды, и синтез фитоалексинов [11].

Однако механизмы развития устойчивости растений к грибным патогенам еще далеки от окончательного выяснения [12]. Особенно это важно для конкретного взаимодействия растение-патоген, поскольку установлено, что защитные механизмы, возникающие в растительном организме в ответ на атаку фитопатогеном, часто являются видо- и сортоспецифическими [1]. С этой целью изучено действие β -1,3-глюкана на защитные реакции растений томата при инфицировании грибным патогеном *Fus. oxu*.

Материалы и методы исследования

Исследования проводили на растениях томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.), сорта Тамара. Растения выращивали в почвогрунте «Овощное изобилие» в климатоканнере при температуре 24 °С под люминесцентными лампами на полихроматическом белом свете при освещенности 110 мкмоль квантов/м²·с⁻¹ с фотопериодом 14 ч на протяжении 60 дней, затем корни отмывали и растения переносили на водопроводную воду. После акклиматизации в течение 2-х суток на водной среде растения опрыскивали иммуномодулирующим препаратом, содержащим в качестве прилипателя водорастворимый полимер (ВРПЗ) на основе сополимера акриламида с акрилатом натрия (ООО «Лесохимик», Беларусь) и иммуномодулятор – β -1,3-глюкан из дрожжей (Solgar, США), исходя из нормы расхода препарата (5 мл/1 растение). Контролем служили растения, обработанные дистиллированной водой. Инфицирование грибным патогеном *Fus. oxu* проводили через 48 ч после обработки иммуномодулирующим препаратом путем внесения суспензионной культуры гриба, содержащей 10⁶ спор/мл, через корни в водную среду (50 мл/1 растение). Анализ листьев проводили через 72 ч после инокуляции растений патогеном.

Содержание индивидуальных хлорофиллов (Хл) и каротиноидов в листьях томата определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе Shimadzu LC 20 Prominence (Shimadzu, Япония) с использованием хроматографической колонки Nucleodur C18 Gravity, размер частиц – 5 мкм, длина 15 см (Macherey Nagel, Германия). Листья томата (50 мг) гомогенизировали с добавлением 100 мг CaCO_3 и 2 мл 99,5 % ацетона. Гомогенат два раза центрифугировали в течение 10 мин при 13000 g (микроцентрифуга Microfuge 16, Германия), 0,5 мл супернатанта вносили в вials и помещали в камеру хроматографа. Объем инъекции – 20 мкл. Разделение пигментов в колонке осуществляли растворами А (90 % ацетонитрил, 9,9 % фильтрованная H_2O , 0,1 % триэтиламин) и Б (100 % этилацетат) по программе с расходом 0,5 мл/мин. Пигменты регистрировали диодно-матричным детектором по спектрам поглощения в диапазоне 200–700 нм [13] и количественно определяли по площади пиков.

Определение общего содержания активных форм кислорода (АФК) проводили с помощью флуоресцентного теста, в основе которого лежит образование дихлорфлуоресцеина (ДХФ) из нефлуоресцирующего 2',7'-дихлорфлуоресцеин диацетата (ДХФ-ДА) (Sigma –Aldrich, США) в экстрактах листьев [14], что позволяет судить об общем содержании АФК в растительных клетках, без идентификации отдельных форм. Регистрировали флуоресценцию ДХФ ($\lambda_{\text{воз.}} = 496$, $\lambda_{\text{рег.}} = 524$ нм) с помощью спектрофлуориметра «SOLAR CM 2203» (Беларусь). О суммарном уровне АФК судили по количеству образовавшегося ДХФ, концентрацию которого рассчитывали по калибровочной кривой, полученной с использованием растворенного в этаноле коммерческого препарата ДХФ (Fluka). Содержание АФК рассчитывали в мкг ДХФ/г сырой массы.

Содержание антоцианов определяли согласно методу [15]. Навеску 0,1 г свежего растительного материала растирали в 0,5 мл 1 %-ного HCl . Остаток в ступке еще раз смывали 0,5 мл раствора. К экстракту добавляли 1 мл хлороформа и центрифугировали в течение 10 мин при скорости 12 000 g и температуре 4 °С (центрифуга KAIDA KH22R, Китай). Измеряли оптическую плотность супернатанта при 525 нм на спектрофотометре Shimadzu UV – 2401PC («Shimadzu», Япония). Содержание антоцианов выражали в миллиграммах на грамм сырой массы (в эквиваленте цианидин-3-глюкозида), используя коэффициент молярной экстинкции 31,6 М⁻¹·см⁻¹.

Общее содержание фенольных соединений определяли спектрофотометрическим методом с помощью комплексообразующих реагентов [16]. Метод основан на реакции полифенольных соединений с реактивом Фолина – Чокалтеу, содержащим фосфомолибдат и вольфрамат натрия, которые при восстановлении фенольными соединениями в щелочной среде образуют комплекс синего цвета (вольфрамовая синь),

интенсивность окраски которого пропорциональна количеству фенольных соединений. Фенольные соединения экстрагировали из растительного материала 96%-ным спиртовым раствором. Содержание полифенолов определяли на спектрофотометре «СОЛАР-2201» (Беларусь) по поглощению при 765 нм продуктов окисления фенольных соединений, используя в качестве калибровочного стандарта галловую кислоту. Суммарное содержание фенольных соединений выражали в мг-экв. галловой кислоты/г сырой массы.

Экспрессию генов *PR-2* и *PR-3*, кодирующих ключевые антипатогенные белки – β -1,3- глюканазу и хитиназу соответственно, определяли с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) [17]. Для этого выделяли суммарную РНК из 0,1 г ткани листьев, предварительно растертых в жидком азоте с помощью набора реагентов Лира (<http://biolabmix.ru/>). Качество РНК оценивали методом электрофореза в агарозном геле, ее концентрацию определяли на приборе BioDrop μ Lite (Serva). Препараты очищали от примеси геномной ДНК (RNase-free DNase, Thermo Fisher Scientific) и использовали для синтеза первой цепи кДНК Реакционная смесь для синтеза кДНК содержала 200 ед. обратной транскриптазы RevertAidTM M-MuLV, случайные (random) гексамерные праймеры (0,2 мкг), 0,1 мМ ДНТФ, 20 ед. ингибитора рибонуклеаз RiboLock (Thermo Fisher Scientific) в общем объеме реакционной смеси 20 мкл. ПЦР-анализ проводился на термоциклере CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США) с использованием набора Luna® Universal qPCR Master Mix («Ферментас», Литва). В реакционную смесь для ПЦР были добавлены специфические олигонуклеотидные праймеры (6–12 пмоль на реакцию), кДНК-матрица в количестве, соответствующем 100 нг тотальной РНК. Программа для термоциклера включала: 95 °C – 5 мин; {94 °C – 30 с, 57–59 °C – 30 с, 72 °C – 30 с} 40 циклов; 72 °C – 7 мин. Скорость изменения температуры – 1 °C/с. Олигонуклеотидные праймеры были синтезированы в ООО «АртБиоТех» (Беларусь) (табл. 1).

Анализ экспрессии генов выполняли в трех биологических повторностях. Для нормализации данных генной экспрессии в качестве референсного гена использовали актин. Оценку экспрессии генов на транскрипционном уровне и статистический анализ результатов проводили с использованием пакета программы *REST-MCS* (<https://www.gene-quantification.de/rest-mcs.html>).

Таблица 1

Нуклеотидная последовательность прямых (F) и обратных (R) праймеров
и размер специфичных им продуктов амплификации

Table 1

Nucleotide sequence of forward (F) and reverse (R) primers and the size of their specific amplification products

Олигонуклеотид	Последовательность олигонуклеотида, 5' → 3'	Размер ампликона, п. н.	Источник
<i>Chi</i>	F– AGCACCAGATGGACCATA R– GCTGACTTGAAGCACAGTAA	83	[18]
<i>Glu</i>	F– TCAGCAGGGTTGCAAAATCA R– CTCTAGGTGGGTAGGTGTTGGTTAA	79	[19]
<i>Actin</i>	F–TGTCCCTATTACGAGGGTTATGC R–CAGTTAAATCACGACCAGCAAGAT	74	[20]

Примечание. *Chi* – хитиназа, *Glu* – глюканаза, *Actin* – актин.

Полученные данные статистически анализировали с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), а средние различия сравнивали с критерием Стьюдента с использованием программ *Statistica 6.0* (StatSoft) и *Excel 2010*. Результаты исследований представлены как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего (SE). Различия при $p < 0,05$ считались значимыми и отмечены на графиках и таблицах звездочкой.

Результаты исследования и их обсуждение

Изучено влияние β -1,3-глюкана в комплексе с ВРП на рост и развитие мицелия патогенного гриба *Fus. oxu. sp.* в условиях *in vitro*. В эксперименте использовали состав, содержащий ВРП на основе сополимера акриламида с акрилатом натрия (ВРП-3, 0,4 %) и β -1,3-глюкан (0,01 %), который вводили в среду Чапека. В контрольном варианте препарат в среду культивирования не добавляли. Из полученных данных следует, что активный рост мицелия происходит в условиях, когда в твердую среду (агар) вносится ВРП-3 (табл. 2).

В этих условиях площадь колоний гриба увеличивается практически в 4 раза по отношению к контрольному варианту. Усиленный рост мицелия наблюдается и на среде, содержащей β -1,3-глюкан и ВРП-3, где под их влиянием площадь колоний увеличивается в 4,7 раза соответственно (табл. 2). Таким образом, оценка влияния β -1,3-глюкана на рост грибного мицелия показала, что это соединение не обладает антифунгальной активностью.

Таблица 2

Влияние β -1,3-глюкана и водорастворимого полимера на развитие гриба *Fus. oxu*. (7 дней роста)

Table 2

Effect of β -1,3-glucan and water-soluble polymer on the development of the fungus *Fus. oxu*. (7 days of growth)

	Варианты	Размер колоний	
		см ²	%
1	Контроль	7,1 ± 0,5	100
2	ВРП (0,4 %)	28,3 ± 2,1*	398,6
3	ВРП (0,4 %) + β -1,3-глюкан (0,01 %)	33,2 ± 2,8*	467,6*

Примечание. * Различия достоверны между 1 и 2(3) ($p \leq 0,05$).

β -глюканы – нерастворимые полисахариды, широко присутствующие в дрожжах, грибах, бактериях, водорослях, ячмене и овсе [21]. В работе *in vitro* было изучено влияние экстракта морских водорослей *Ascophyllum nodosum* в разных дозах (0,5 %; 1,0; 2,0; 4,0 и 8,0 %) на морфологию и целлюлозолитическую способность гриба *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* [22]. Было подтверждено, что препарат при увеличении дозы индуцировал рост мицелия гриба, что определялось по диаметру колоний и свежей массе мицелия, выращенного в культуральной среде с картофелем и декстрозой. Этот результат сопровождался прогрессивным увеличением активности ферментов β -1,3-глюканазы и хитиназы, участвующих в процессе удлинения гифов патогенного гриба.

Мы обнаружили сильную стимуляцию роста мицелия на культуральной среде, содержащей ВРП (табл. 2). Наблюдаемый стимулирующий эффект может быть обусловлен высокой водоудерживающей способностью полимера, с одной стороны, и его рострегулирующей активностью – с другой [23]. Таким образом, изучение влияния препарата, содержащего β -1,3-глюкан и ВРП, на рост грибного мицелия свидетельствует, что эти соединения не обладают противогрибковой активностью и более того стимулируют развитие гриба *Fus. oxu*.

У растений в процессе эволюции развились рецепторы, позволяющие определять уникальные молекулы микроба, так называемые молекулярные паттерны, связанные с микробами (microbe-associated molecular patterns, МАР). β -глюкан, наиболее распространенный полисахарид клеточной стенки грибов, также служит МАР, но механизмы восприятия и передачи сигналов β -глюкана в растениях в значительной степени неизвестны [24]. Обнаружено, что в растениях при распознавании глюканов образуются H_2O_2 и фитоалексины, активируются РР-гены. Рецептор неизвестен, но рецептор-подобная киназа с 30 % сходством с Дектин-1 животных обнаружена в *A. thaliana* и соевых бобах.

Таким образом, наиболее ранней реакцией растительного организма на внедрение возбудителя является генерация АФК, которые оказывают прямое противогрибковое действие на микроорганизмы, а также могут выполнять сигнальную функцию, необходимую для формирования системной приобретенной резистентности [25]. В этой связи прежде всего было изучено влияние состава, содержащего β -1,3-глюкан и ВРП, на общий уровень АФК в здоровых и инфицированных листьях томата (табл. 3). Обнаружено, что атака патогеном не приводит к изменению содержания АФК в листьях томата в сравнении с контролем, тогда как предобработка растений составом на основе β -1,3-глюкана способствовала повышению на 42,7 % общего уровня АФК в условиях поражения *Fus. oxu*.

Таблица 3

Влияние *Fus. oxu*. и обработки препаратом, содержащим β -1,3-глюкан и ВРП, на содержание суммы АФК, полифенолов и антоцианов в листьях томата

Table 3

Effect of *Fus. oxu*. and treatment with a preparation containing β -1,3-glucan and WSP on the content of total ROS, polyphenols and anthocyanins in tomato leaves

	Вариант	Содержание АФК, мкг ДХФ/г сырой массы	Содержание полифенолов, мг-экв. галловой кислоты /г сырой массы	Содержание антоцианов, мг/г сырой массы
1	Контроль	10,31 ± 0,080	8,75 ± 0,44	0,44 ± 0,03
2	<i>Fus. oxu</i> .	10,36 ± 0,018	14,75 ± 0,42*	0,53 ± 0,02*
3	β -1,3-глюкан + ВРП + <i>Fus. oxu</i> .	14,71 ± 0,30*	20,80 ± 0,38**	0,57 ± 0,03*

Примечание. * Различия достоверны между 1 и 2(3) (t-критерий, $p \leq 0,05$);

**различия достоверны между 2 и 3 (t-критерий, $p \leq 0,05$).

Защитная роль фенольных соединений, которую они играют при поражении растений грибковыми патогенами, широко документирована [26]. Предварительно синтезированные противогрибковые фенольные соединения здоровых растений обычно находятся в вакуолях или органеллах в конъюгированной форме, чаще с гликозидными связями. Биотрофы могут избежать высвобождения из депо фенольных соединений, минимизируя ущерб растению-хозяину, тогда как некротрофы, вызывают значительное высвобождение этих соединений. Обнаружено, что мутант ячменя (Ant 18-159) оказался чрезвычайно устойчивым к поражению фузариозом, поскольку гифы гриба не смогли проникнуть в зерна этого мутанта из-за присутствия в них противогрибковых фенольных соединений [27].

В качестве защитных реакций было изучено накопление фенольных соединений, включая антоцианы, в листьях растений томата в условиях эксперимента. Показано, что при фузариозном поражении растений наблюдается повышение содержания антоцианов на 20,5 % относительно контроля, а после предобработки β -1,3-глюканом в комплексе с ВРП прослеживается тенденция к еще более заметному увеличению их количества (табл. 3). В инфицированных листьях томата отмечено также повышение общего содержания полифенолов на 68,6 % относительно уровня в здоровых листьях, а в предобработки растений томата иммуномодулятором их количество в инфицированных листьях возросло в 2,38 раза в сравнении с контролем (табл. 3). Следовательно, состав на основе β -1,3-глюкана индуцирует развитие защитных реакций в пораженных фузариозом листьях томата на уровне вторичных метаболитов, участвующих в регуляции окислительно-восстановительных процессов в растительных клетках.

Основными токсинами, вырабатываемыми *Fus. oxu.*, являются фузаровая кислота, ликомаразмин и дегидрофузаровая кислота [28]. Действие фузаровой кислоты связано со снижением фотосинтеза, увяданием, некрозом листьев, гибелью клеток, снижением жизнеспособности растительных клеток и распространением патогена по органам растения [29]. Как было показано ранее, развитие фузариозного увядания в зависимости от условий приводит к подавлению фотосинтетической активности растений томата по двум разным механизмам [30]. В случае медленного увядания (тип I) было продемонстрировано снижение эффективности светосбора и разделения зарядов в реакционных центрах ФС 2, подавление переноса электронов на акцепторной стороне ФС 2 и снижение активности ключевого фермента темновой стадии фотосинтеза – рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы. В случае быстрого увядания (II тип) фотохимическая активность хлоропластов подавлялась в меньшей степени, чем при фузариозном увядании I типа.

Одним из основных показателей фотосинтетической активности растений является содержание пластидных пигментов. Этот показатель, как правило, рассматривается в качестве интегрального критерия оценки эффективности поглощения солнечной энергии листовой поверхностью и является показателем функционального состояния фотосинтетического аппарата [31]. Методом ВЭЖХ было исследовано влияние *Fus. oxu.* и состава на основе β -1,3-глюкана на содержание фотосинтетических пигментов в листьях томата. В результате проведенных обработок качественный состав компонентов у всех исследованных образцов не изменялся. Количественный анализ содержания пигментов показал, что патогенный гриб оказывает негативное действие на содержание Хл и каротиноидов (табл. 4). Обработка растений составом, содержащим β -1,3-глюкан, способствовала устранению ингибирующего действия патогена на пигментный аппарат, повышая количество Хл. Так, относительное содержание Хл *a* в инфицированных растениях повышалось с 35,39 до 68,46 %, а Хл *b* – с 39,75 до 75,88 % в результате обработки препаратом с β -1,3-глюканом (табл. 4).

Таблица 4

Влияние β -1,3-глюкана на относительное содержание хлорофилла и каротиноидов
в листьях томата, измеренное методом ВЭЖХ

Table 4

Effect of β -1,3-glucan on the relative content of chlorophyll and carotenoids in tomato leaves measured by HPLC

	Варианты	Неоксантин	Виолаксантин	Антероксантин	Лютеин	Хл <i>b</i>	Хл <i>a</i>	β -каротин
1	Контроль	100	100	100	100	100	100	100
2	<i>Fus. oxu.</i>	38,65	32,62	62,21	48,37	39,75	35,39	33,22
3	β -1,3-глюкан+ ВРП+ <i>Fus. oxu.</i>	70,67	55,72	70,05	81,10	75,88	68,46	62,62

Примечание. Количество отдельных форм пигментов, рассчитанное в мкг/г сырой массы, выражено в % от содержания соответствующего пигмента в контрольном образце.

Нами не обнаружено даже следовых количеств зеаксантина как в здоровых, так и в инфицированных листьях томата. При этом инфицирование грибом снижало содержание виолаксантина до 32,62 %, а неоксантина – до 38,65 % в сравнении с контролем. Менее выраженный ингибирующий эффект отмечен для антраксантина (62,21 %) и лютеина (48,37 %).

Из полученных данных следует, что пленкообразующий состав, содержащий β -1,3-глюкан, предотвращает вызванное патогеном снижение содержания каротиноидов, повышая их количество в тканях листа, которое однако не достигает уровня пигментов в здоровых растениях (табл. 4). Показано, что каротиноиды (β -каротин и ксантофиллы) играют важную роль в защите клеток от стресса и обладают способностью подавлять АФК в растениях томата [32]. Таким образом, антиоксидантная эффективность более высоких уровней мажорных каротиноидов, наряду с фенольными соединениями, может быть непосредственным компонентом антиоксидантной защиты при фузариозном увядании.

Растительные β -1,3-глюканазы являются одним из важнейших классов ферментов, участвующих во взаимодействиях растение-патоген, поэтому их большое включено в группу белков, связанных с патогенезом (PR-2) [33]. Очищенные β -1,3-глюканазы оказывают ингибирующее действие на прорастание спор грибов и рост гифов, вызывая деформации и лизис мицелия вследствие гидролиза стенок грибов. Такой тип противогрибковой активности проявляла табачная β -1,3-глюканаза Glu II в отношении *Fus. solani* [34]. Хитиназы представляют собой гликозилгидролазы и широко встречаются в различных организмах в природе. Они считаются группой белков, связанных с патогенезом (PR-3) [35]. При инокуляции устойчивого сорта огурца JIN5-508 *Podosphaera xanthii* экспрессия генов хитиназы значительно повышалась, что запускало реакцию сверхчувствительности, останавливающую инвазию мучнистой росы [36]. При подавлении генов хитиназы *Chi23*, *Chi32* и *Chi47* наблюдалось снижение устойчивости хлопка к *Verticillium dahliae* [37].

Для сравнительного анализа возможного ответа на обработку β -1,3-глюканом была определена экспрессия генов защитных белков – β -1,3-глюканазы (*Glu*) и хитиназы (*Chi*). Расчет проводили с учетом значений *Sq* для гена-нормализатора и относительно контроля (вариант 1, табл. 5).

Таблица 5

Экспрессии генов β -1,3-глюканазы (*Glu*) и хитиназы (*Chi*) в листьях томата

Table 5

Expressions of β -1,3-glucanase (*Glu*) and chitinase (*Chi*) genes in tomato leaves

	Варианты	Уровень экспрессии гена <i>Glu</i> , отн. ед.	Уровень экспрессии гена <i>Chi</i> , отн. ед.
1	Контроль	1,0	1,0
2	<i>Fus. oxu.</i>	1,085 $\pm$ 0,008	1,684 $\pm$ 0,066*
3	β -1,3-глюкан	4,321 $\pm$ 0,234*	1,109 $\pm$ 0,019
4	β -1,3-глюкан + <i>Fus. oxu.</i>	4,182 $\pm$ 0,234*	3,209 $\pm$ 0,266*

Примечание. *Различия достоверны между контролем и опытом ($p \leq 0,05$).

Обработка β -1,3-глюканом растений томата вызывала значительное повышение относительного уровня экспрессии гена *Glu* как в здоровых, так и в инфицированных *Fus. oxu.* растениях томата (на 3,32 и 3,18 отн. ед. соответственно). Уровень относительной экспрессии гена *Chi* также значительно повысился после предварительной обработки β -1,3-глюканом с последующим заражением *Fus. ox.* (на 2,21 отн. ед. относительно контроля).

Увеличение экспрессии данных генов может приводить к активизации синтеза PR-белков (β -1,3-глюканазы и хитиназы), обладающих противогрибковой гидролитической активностью и оказывающих ингибирующее действие на прорастание спор и рост гифов патогенных грибов.

Заключение

Фузариозное увядание, вызываемое *Fus. oxu.*, является одним из наиболее опасных заболеваний томата и приводит либо к гибели растений, либо к значительному снижению урожайности. Использование биогенных соединений обеспечивает успешную защиту от многих грибковых заболеваний за счет метаболических изменений в растениях, включая индукцию ферментов биосинтеза фенолов, антиоксидантных защитных ферментов и низкомолекулярных антиоксидантов. В данной работе экспериментально доказано,

что препарат, состоящий из β -1,3-глюкана и ВРП, вызывает усиление защитных систем в листовых клетках томата путем генерации АФК и стимуляции биосинтеза вторичных метаболитов (полифенолов и антоцианов), повышения содержания фотосинтетических пигментов и активации генов защитных белков, что позволяет использовать эти соединения для создания нового природного защитного средства для борьбы с фузариозом томата. Дальнейшие исследования могут быть направлены на изучение характера влияния препарата в контролируемых и полевых условиях в течение всего цикла развития растений томата с привлечением широкого диапазона физиологических и биохимических параметров, включая оценку урожайности и качества овощной продукции.

Библиографические ссылки

1. Шакирова ФМ. *Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и её регуляция*. Уфа: Гилем; 2001. 160 с.
2. Пересыпкин ВФ, редактор. *Болезни сельскохозяйственных культур*. Киев: Урожай; 1991. Том 3. 512 с.
3. Сидорова СФ. *Вертициллезное и фузариозное увядание однолетних сельскохозяйственных культур*. Москва: Колос; 1983. 157 с.
4. Leubner-Metzger G. Functions and regulation of β -1,3-glucanase during seed germination, dormancy release and after-ripening. *Seed Science Research*. 2003;13(1):17–34.
5. Leclercq J, Fliegmann J, Tellstroem V. Identification of a multigene family encoding putative beta-glucan-binding proteins in *Medicago truncatula*. *Journal of Plant Physiology*. 2008;165(7):766–76.
6. Sriram S, Misra RS, Sahu AK, Maheswari SK. A cell wall glucan elicitor induces resistance in taro against *Phytophthora* leaf blight. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2003;110(1):17–26.
7. Klarzynski O, Plesse B, Joubert JM, Yvin JC, Kopp M, Kloareg B, et al. Linear β -1,3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco. *Plant Physiology*. 2000;124(3):1027–1038.
8. Mérida H, Sopena-Torres S, Bacete L, Garrido-Arandia M, Jordá L, López G, et al. Non-branched β -1,3-glucan oligosaccharides trigger immune responses in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*. 2018;93(1):34–49.
9. Inui H, Yamaguchi Y, Hirano S. Elicitor actions of N-acetylchitoooligosaccharides and laminarioligosaccharides for chitinase and L-phenylalanine ammonia-lyase induction in rice suspension culture. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 1997;61(6):975–978.
10. Cosio EG, Feger M, Miller CJ, Antelo L, Ebel J. High-affinity binding of fungal β -glucan elicitors to cell membranes of species of the plant family Fabaceae. *Planta*. 1996;200(1):92–99.
11. Aziz A, Poinssot B, Daire X, Adrian M, Bézier A, Lambert B, et al. Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2003;16(12):1118–1128.
12. Kabashnikova L, Abramchik L, Domanskaya I, Savchenko G, Shpileuski S. β -1,3-glucan effect on the photosynthetic apparatus and oxidative stress parameters of tomato leaves under fusarium wilt. *Functional Plant Biology*. 2020;47(11):988–997.
13. Rodrigues-Amaya DB, Kimura M. *Handbook for Carotenoid Analysis*. Washington, D. C.: HarvestPlus; 2004. 63 p.
14. LeBel CP, Ischiropoulos H, Bondy SC. Evaluation of probe 2',7'-dichlorofluorescein as an indicator of oxygen species formation and oxidative stress. *Chemical Research in Toxicology*. 1992;9:304–307.
15. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. *The systematic identification of flavonoids*. Berlin: Springer; 1970. 354 p.
16. Николаева ТН, Лапшин ПВ, Загоскина НВ. Метод определения суммарного содержания фенольных соединений в растительных экстрактах с реактивом Фолина-Дениса и реактивом Фолина-Чокальтеу: модификация и сравнение. *Химия растительного сырья*. 2021;(2):291–299.
17. Ребриков ДВ, Саматов ГА, Трофимов ДЮ, Семенов ПА. *ПЦР в реальном времени*. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2015. 233 с.
18. Cao J, Tan X. Comprehensive Analysis of the Chitinase Family Genes in Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plants*. 2019;8(3):52.
19. Milling A, Babujee L, Allen C. *Ralstonia solanacearum* extracellular polysaccharide is a specific elicitor of defense responses in wilt-resistant tomato plants. *PLoS One*. 2011;6(1). DOI: 10.1371/journal.pone.0015853.
20. Ren Z, Li Z, Miao Q, Yang Y, Deng W, Hao Y. The auxin receptor homologue in *Solanum lycopersicum* stimulates tomato fruit set and leaf morphogenesis. *Journal of Experimental Botany*. 2011 May;62(8):2815–2826.
21. Du B, Meenu M, Liu H, Xu B. A Concise Review on the Molecular Structure and Function Relationship of β -Glucan. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(16):4032.
22. Melo TA, Serra IMRS, Nascimento ITVS. *Ascomyces nodosum* seaweed extract effect on morphology and cellulolytic ability of the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Research, Society and Development*. 2020;9(11). DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.991322>.
23. Круль ЛП, Нарейко ЭИ, Матусевич ЮИ, Якимцова ЛВ, Матусевич В. Суперабсорбенты на основе сополимеров акриламида с акрилатом натрия. *Polymer Bulletin*. 2000;45(2):159–165.
24. Fesel PH, Zuccaro A. β -glucan: Crucial component of the fungal cell wall and elusive MAMP in plants. *Fungal Genetics and Biology*. 2016;90:53–60.
25. Khan M, Ali S, Al Azzawi TNI, Saqib S, Ullah F, Ayaz A, et al. The Key Roles of ROS and RNS as a Signaling Molecule in Plant-Microbe Interactions. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(2):268.
26. Vincenzo L, Veronica MT, Cardinali L, Cardinali A. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. In: Imperato F, editor. *Phytochemistry: Advances in Research*. Kerala, India: Research Signpost; 2006:23–67.
27. Skadhauge B, Thomsen KK, Wettstein DV. The role of the barley testa layer and its flavonoid content in resistance to *Fusarium* infections. *Hereditas*. 1977;126:147–160.
28. López-Zapata SP, García-Jaramillo DJ, López WR, Ceballos-Aguirre N. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* interaction. A review. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*. 2021;24(1). DOI: <https://doi.org/10.31910/rudca.v24.n1.2021.1713>.
29. Srinivas C, Nirmala D, Narasimha Murthy K, Mohan CD, Lakshmeesha TR, Singh B, et al. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: biology to diversity - A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2019;26(7):1315–1324.

30. Пишибытко НЛ, Зеневич ЛА, Кабашникова ЛФ. Изменения в фотосинтетическом аппарате при фузариозном увядании томата. *Физиология растений*. 2006;53(1):25–31.
31. Кабашникова ЛФ. *Фотосинтетический аппарат и стресс у растений*. Минск: Беларуская навука; 2014. 267 с.
32. Sen S, Mukherji S. Season-controlled changes in biochemical constituents and oxidase enzyme activities in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Environmental Biology*. 2009;30(4):479–483.
33. Balasubramanian V, Vashisht D, Cletus J, Sakthivel N. Plant β -1,3-Glucanases: Their Biological Functions and Transgenic Expression against Phytopathogenic Fungi. *Biotechnology Letters*. 2012;34:1983–1990.
34. Sela-Buurlage MB, Ponstein AS, Bres-Vloemans SA, Melchers LS, Van Den Elzen PJM, Cornelissen BJC. Only Specific Tobacco (*Nicotiana tabacum*) Chitinases and β -1,3-Glucanases Exhibit Antifungal Activity. *Plant Physiology*. 1993;101:857–863.
35. Wen X, Tengsheng Z, Dandan L, Sufang A, Jinna H, Genyi L. Evolution and Expression Divergence of the Chitinase Gene Family against *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum* Infection in *Brassica napus*. *Journal of Henan Agricultural Sciences*. 2020;49:89–103.
36. Li J, Zhang R, Qi X, Xie Q, Chen X. A Preliminary Study on Cloning of Chitinase Gene and Relationships to Resistance of Powdery Mildew in Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Molecular Plant Breeding*. 2015;13:1584–1591.
37. Xu J, Xu X, Tian L, Wang G, Zhang X, Wang X, et al. Discovery and identification of candidate genes from the chitinase gene family for *Verticillium dahliae* resistance in cotton. *Scientific Reports*. 2016;6:29022.

References

1. Shakirova FM. *Nespecifichekaya ustoychivost' rasteniy k stressovym faktoram i yeyo regulyatsiya* [Nonspecific resistance of plants to stress factors and its regulation]. Ufa: Gilem; 2001. 160 p. Russian.
2. Peresypkin VF, editor. *Bolezni sel'skokhozyaystvennykh kul'tur* [Diseases of agricultural crops]. Kiev: Urozhay; 1991. T. 3. 512 p. Russian.
3. Sidorova SF. *Vertitsilleznoe i fuzarioznoe uvyanie odnoletnikh sel'skokhozyaystvennykh kul'tur* [Verticillous and fusarium wilting of annual crops]. Moscow: Kolos; 1983. 157 p. Russian.
4. Leubner-Metzger G. Functions and regulation of β -1,3-glucanase during seed germination, dormancy release and after-ripening. *Seed Science Research*. 2003;13(1):17–34.
5. Leclercq J, Fliegmann J, Tellstroem V. Identification of a multigene family encoding putative beta-glucan-binding proteins in *Medicago truncatula*. *Journal of Plant Physiology*. 2008;165(7):766–776.
6. Sriram S, Misra RS, Sahu AK, Maheswari SK. A cell wall glucan elicitor induces resistance in taro against *Phytophthora* leaf blight. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2003;110(1):17–26.
7. Klarzynski O, Plesse B, Joubert JM, Yvin JC, Kopp M, Kloareg B, et al. Linear β -1,3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco. *Plant Physiology*. 2000;124(3):1027–1038.
8. Mérida H, Sopena-Torres S, Bacete L, Garrido-Arandia M, Jordá L, López G, et al. Non-branched β -1,3-glucan oligosaccharides trigger immune responses in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*. 2018;93(1):34–49.
9. Inui H, Yamaguchi Y, Hirano S. Elicitor actions of N-acetylchitoooligosaccharides and laminarioligosaccharides for chitinase and L-phenylalanine ammonia-lyase induction in rice suspension culture. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 1997;61(6):975–978.
10. Cosio EG, Feger M, Miller CJ, Antelo L, Ebel J. High-affinity binding of fungal β -glucan elicitors to cell membranes of species of the plant family Fabaceae. *Planta*. 1996;200(1):92–99.
11. Aziz A, Poinssot B, Daire X, Adrian A, Bézier A, Lambert B, et al. Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2003;16(12):1118–1128.
12. Kabashnikova L, Abramchik L, Domanskaya I, Savchenko G, Shpileuski S. β -1,3-glucan effect on the photosynthetic apparatus and oxidative stress parameters of tomato leaves under fusarium wilt. *Functional Plant Biology*. 2020;47(11):988–997.
13. Rodrigues-Amaya DB, Kimura M. *Handbook for Carotenoid Analysis*. Washington, D. C.: HarvestPlus; 2004. 63 p.
14. LeBel CP, Ischiropoulos H, Bondy SC. Evaluation of probe 2,2',7'-dichlorofluorescein as an indicator of oxygen species formation and oxidative stress. *Chemical Research in Toxicology*. 1992;9:304–307.
15. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. *The Systematic Identification of Flavonoids*. Berlin: Springer; 1970. 354 p.
16. Nikolaeva TN, Lapshin PV, Zagorskina NV. *Metod opredeleniya summarogo soderzhaniya fenol'nykh soedineniy v rastitel'nykh ekstraktakh s reaktivom Folina-Denisa i reaktivom Folina-Chokal'teu: modifikatsiya i sravnenie* [Method for determining the total content of phenolic compounds in plant extracts with Folin-Denis reagent and Folin-Chocalteu reagent: modification and comparison]. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya* [Chemistry of Plant Raw Material]. 2021;(2):291–299. Russian.
17. Rebrikov DV, Samatov GA, Trofimov DY, Semenov PA. *PTsR v real'nom vremeni* [Real-time PCR]. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. 233 p. Russian.
18. Cao J, Tan X. Comprehensive Analysis of the Chitinase Family Genes in Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plants*. 2019;8(3):52.
19. Milling A, Babujee L, Allen C. *Ralstonia solanacearum* extracellular polysaccharide is a specific elicitor of defense responses in wilt-resistant tomato plants. *PLoS One*. 2011;6(1). DOI: 10.1371/journal.pone.0015853.
20. Ren Z, Li Z, Miao Q, Yang Y, Deng W, Hao Y. The auxin receptor homologue in *Solanum lycopersicum* stimulates tomato fruit set and leaf morphogenesis. *Journal of Experimental Botany*. 2011; 62(8):2815–2826.
21. Du B, Meenu M, Liu H, Xu B. A Concise Review on the Molecular Structure and Function Relationship of β -Glucan. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(16):4032.
22. Melo TA, Serra IMRS, Nascimento ITVS. *Ascophyllum nodosum* seaweed extract effect on morphology and cellulolytic ability of the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Research, Society and Development*. 2020;9(11). DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.991322>.
23. Krul LP, Nareyko EI, Matusevich YuI, Yakimtsova LV, Matusevich V. *Superabsorbenty na osnove sopolimerov akrilamida s akrilatom natriya* [Superabsorbents based on copolymers of acrylamide with sodium acrylate]. *Polymer Bulletin*. 2000;45(2):159–165.
24. Fesel PH, Zuccaro A. β -glucan: Crucial component of the fungal cell wall and elusive MAMP in plants. *Fungal Genetics and Biology*. 2016;90:53–60.
25. Khan M, Ali S, Al Azzawi TNI, Saqib S, Ullah F, Ayaz A, et al. The Key Roles of ROS and RNS as a Signaling Molecule in Plant-Microbe Interactions. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(2):268.

26. Vincenzo L, Veronica MT, Cardinali L, Cardinali A. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. In: Imperato F, editor. *Phytochemistry: Advances in Research*. Kerala, India: Research Signpost; 2006:23–67.
27. Skadhauge B, Thomsen KK, Wettstein DV. The role of the barley testa layer and its flavonoid content in resistance to Fusarium infections. *Hereditas*. 1977;126:147–160.
28. López-Zapata SP, García-Jaramillo DJ, López WR, Ceballos-Aguirre N. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici interaction. A review. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*. 2021;24(1). DOI: <https://doi.org/10.31910/rudca.v24.n1.2021.1713>.
29. Srinivas C, Nirmala D, Narasimha Murthy K, Mohan CD, Lakshmeesha TR, Singh B, et al. Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici causal agent of vascular wilt disease of tomato: biology to diversity – A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2019;26(7):1315–1324.
30. Pshibitko NL, Zenevich LA, Kabashnikova LF. *Izmeneniya v fotosinteticheskom apparate pri fuzarioznom uvyaniye tomata* [Changes in the photosynthetic apparatus during fusarium wilt of tomatoes]. *Fiziologiya Rasteniy* [Russian Journal of Plant Physiology]. 2006;53(1):25–31. Russian.
31. Kabashnikova LF. *Fotosinteticheskiy apparat i stress u rasteniy* [Photosynthetic apparatus and stress in plants]. Minsk: Belaruskaya navuka; 2014. 267 p. Russian.
32. Sen S, Mukherji S. Season-controlled changes in biochemical constituents and oxidase enzyme activities in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Environmental Biology*. 2009;30(4):479–483.
33. Balasubramanian V, Vashisht D, Cletus J, Sakthivel N. Plant beta-1,3-glucanases: their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi. *Biotechnology Letters*. 2012;34(11):1983–1990.
34. Sela-Buurlage MB, Ponstein AS, Bres-Vloemans SA, Melchers LS, Van Den Elzen PJM, Cornelissen BJC. Only Specific Tobacco (*Nicotiana tabacum*) Chitinases and β -1,3-Glucanases Exhibit Antifungal Activity. *Plant Physiology*. 1993;101:857–863.
35. Wen X, Tengsheng Z, Dandan L, Sufang A, Jinna H, Genyi L. Evolution and Expression Divergence of the Chitinase Gene Family against *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum* Infection in Brassica napus. *Journal of Henan Agricultural Sciences*. 2020;49:89–103.
36. Li J, Zhang R, Qi X, Xie Q, Chen X. A Preliminary Study on Cloning of Chitinase Gene and Relationships to Resistance of Powdery Mildew in Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Molecular Plant Breeding*. 2015;13:1584–1591.
37. Xu J, Xu X, Tian L, Wang G, Zhang X, Wang X, et al. Discovery and identification of candidate genes from the chitinase gene family for *Verticillium dahliae* resistance in cotton. *Scientific Reports*. 2016;6:29022.

Статья поступила в редколлегию 06.08.2024.
Received by editorial board 06.08.2024.