

ИЗМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГРИБА *RAMULARIA TULASNEI* SACC

^{1,2}Алейников А.Ф., ¹Минеев В.В.

¹Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук
Новосибирская область, р.п. Краснообск, Россия,

²Новосибирский государственный технический университет
Новосибирск, Россия

Для цитирования: Алейников А.Ф., Минеев В.В. Изменение флуоресценции хлорофилла земляники садовой при воздействии гриба *Ramularia tulasnei* Sacc // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2019. Т. 49. № 2. С. 94–102, DOI: 10.26898/0370-8799-2019-2-12

For citation: Aleynikov A.F., Mineev V.V. Izmenenie fluorestsentsii khlorofilla zemlyaniki sadovoi pri vozdeistvii griba *Ramularia tulasnei* Sacc [Effect of the fungus of *Ramularia tulasnei* Sacc on chlorophyll fluorescence in garden strawberry] *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* [Siberian Herald of Agricultural Science], 2019, vol. 49, no. 2, pp. 94–102, DOI: 10.26898/0370-8799-2019-2-12

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Обоснована актуальность ранней неинвазивной диагностики грибных болезней земляники садовой. Проведен сравнительный анализ основных используемых методов ранней диагностики культурных растений. Для исследований использовали живые листья растений земляники садовой сортов Симфония и Элиани, выращенных в естественных условиях на биополигоне в горшочках. Состав почвы – выщелоченный чернозём, с добавлением торфа и комплекса удобрений (суперфосфат и калийная соль). Изучены информативные параметры флуоресценции хлорофилла растительных тканей листьев земляники, связанных с воздействием биострессора (гриба *Ramularia tulasnei* Sacc – возбудителя белой пятнистости). Измерения параметров флуоресценции хлорофилла листьев земляники садовой проводили флуориметром Dual-PAM-100 по разработанной методике исследований. Управление режимами флуориметра осуществлялось при помощи компьютера с операционной системой Windows по специальной программе. В результате экспериментальных исследований выявлено, что для двух сортов земляники Симфония и Элиани гриб *Ramularia tulasnei* Sacc вызывает наиболее различимые и стабильные изменения параметров флуоресценции хлорофилла растительных тканей листьев: квантовый выход фотохимического превращения световой энергии, минимальная флуоресценция хлорофилла *a* в адаптированных к свету объектах и квантовый выход нерегулиру-

EFFECT OF THE FUNGUS OF *RAMULARIA TULASNEI* SACC ON CHLOROPHYLL FLUORESCENCE IN GARDEN STRAWBERRY

^{1,2}Aleynikov A.F., ¹Mineev V.V.

¹Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences

Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

²Novosibirsk State Technical University
Novosibirsk, Russia

The relevance of early undamaging diagnosis of fungal diseases of garden strawberry has been proved. Comparative analysis of the main methods of early diagnostics of cultivated plants has been carried out. Fresh leaves of common garden strawberry of Symphony and Eliani cultivars grown in natural conditions in pots on bio-testing ground were used for research. Soil composition was leached chernozem with the addition of peat and fertilizer complex (superphosphate and potassium salt). Informative parameters of chlorophyll fluorescence of plant tissues of strawberry leaves obtained as a result of the impact of a bio-stressor (fungus of *Ramularia tulasnei* Sacc.) have been studied. Parameters of chlorophyll fluorescence in garden strawberry leaves were measured by the Dual-PAM-100 fluorimeter device in accordance with the technique developed. Fluorimeter mode control was exercised by means of the computer with the Windows operating system according to the special program. As a result of pilot studies, it was revealed that for two cultivars of garden strawberry Symphony and Eliani, fungus of *Ramularia tulasnei* Sacc caused the most significant and stable changes of chlorophyll fluorescence parameters of plant tissues of leaves: quantum yield of photochemical transformation of light energy, the minimum chlorophyll fluorescence *a* in the objects adapted to light and quantum yield of non-regulated energy dissipation. When strawberry cultivars Symphony

емой диссипации энергии. При поражении этим биострессором двух сортов земляники – Симфония и Элиани у параметра – квантовый выход нерегулируемой диссипации энергии – проявляются наиболее идентичные свойства по характеру его зависимости и текущим значениям. Возможно достоверное раннее неинвазивное обнаружение грибных болезней земляники садовой по уровню квантового выхода нерегулируемой диссипации энергии.

Ключевые слова: земляника садовая, гриб *Ramularia tulasnei* Sacc, хлорофилл, флуоресценция, квантовый выход нерегулируемой диссипации энергии

ВВЕДЕНИЕ

В борьбе с угрозами биологической безопасности в сельском хозяйстве важную роль отводят эффективным средствам наблюдения и контроля, способным проводить раннее неинвазивное обнаружение микробиологических, вирусных и грибных болезней культурных растений [1].

При возделывании садовых культур болезни растений являются серьезным негативным фактором, снижающим экономическую эффективность их производства. Земляника садовая широко распространена в мире из-за очевидных преимуществ по сравнению с другими ягодными культурами. Земляника обладает ценными лечебными свойствами и ярким привлекательным видом. Она питательна, имеет обильный биохимический состав и обладает высокими вкусовыми качествами. Ее доля в общемировом производстве ягод составляет более 70% [2]. Однако почки, листья, корни, ягоды земляники повреждают более 20 видов возбудителей болезней и более 10 видов вредителей. Землянику садовую поражают свыше 30 грибных, вирусных и бактериальных болезней [3]. Большинство болезней (около 80%) вызывают грибы. При развитии грибных болезней резко снижается урожайность ягод до 60–70% [4]. Кроме того, при поражении болезнями растение сильно ослабляется, вплоть до его полной гибели.

За рубежом уже давно активно создают национальные системы защиты растений от болезней. Эти системы включают комплекс

and Eliani were affected by this bio-stressor, the parameter of quantum yield of non-regulated energy dissipation showed the most identical properties on the nature of its dependence and current values. Credible early undamaging diagnosis of fungal diseases of garden strawberry was proved possible by the level of quantum yield of non-regulated energy dissipation.

Keywords: garden strawberry, fungus *Ramularia tulasnei* Sacc, chlorophyll, fluorescence, quantum yield of non-regulated energy dissipation

мер, в том числе и мониторинг фитосанитарного состояния с применением новейших методов диагностики [5–7].

Ранняя диагностика болезней растений достаточно сложна. Большинство методов диагностики болезней плодовых культур основано на обнаружении специфических антигенов (иммунохимические методы) или нуклеиновой кислоты (молекулярные методы). В лабораторной диагностике болезней плодовых культур доминируют метод иммуноферментного анализа (ИФА), различные варианты полимеразной цепной реакции (ПЦР) и молекулярно-гибридизационный анализ (МГА), отличающиеся от других высокой чувствительностью и специфичностью. Для одновременного выявления нескольких патогенов в одном образце предлагаются различные технические решения, наиболее перспективные среди них связаны с развитием чиповой технологии. Ведущую роль среди методов внелабораторной диагностики играет иммунохроматография (ИХА) в пористых мембранах (тест-полосках) [8]. Однако известные методы требуют использования сложного и дорогостоящего оборудования и высококвалифицированного технического обслуживания. Распространенные прецизионные методы имеют определенную специфику, приводящую к неблагоприятным ситуациям на практике.

Высокая чувствительность ПЦР-метода позволяет выявить в образце присутствие даже одной споры или нескольких копий ДНК фитопатогенного гриба. Но для полу-

чения ложноположительного результата достаточно даже минимального загрязнения изначально «чистого» образца. Проведение опыта требует высокую степень стерильности на всех стадиях анализа и использование отрицательных контролей.

Иммуноферментный анализ в основном применяют для обнаружения вирусов и значительно реже – для идентификации грибов и бактерий. Причина – трудность получения антител с необходимой специфичностью. Строение клеточных стенок грибов и бактерий в ходе их жизненного цикла может изменяться, и оно гораздо сложнее, чем у вирусного капсида (внешняя оболочка вируса, состоящая из белков) [8, 9].

В настоящее время в исследованиях растений интенсивно развиваются методы исследования флуоресценции хлорофилла [10–13].

Существует тесная связь между фотосинтезом сельскохозяйственных культур и улучшением продуктивности сельского хозяйства. Понимание фотосинтетического статуса растения является важным приоритетом для оценки продуктивности культур, подвергающихся различным воздействиям окружающей среды. Измерения флуоресценции хлорофилла дают полезную информацию о фотосинтетических характеристиках листьев растений, находящихся под стрессом [14]. Измерения флуоресценции хлорофилла используются в качестве диагностических инструментов, которые облегчают простую, быструю, неразрушающую, надежную количественную оценку поражения растений, вызванного низкими температурами, высокой засоленностью, высокой фотосинтетической радиацией [15–17]. Исследователи проводят работы по обнаружению различных болезней у культурных растений [18–20].

Цель исследования – экспериментально выявить информативные параметры флуоресценции хлорофилла растительных тканей листьев земляники садовой, связанные с воздействием биострессора (гриба *Ramularia tulasnei* Sacc), для оценки возможности создания метода неинвазивной ранней диагностики грибных болезней.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследований использовали живые листья растений земляники садовой сортов Симфония и Элиани, выращенных в 10 горшочках на биополигоне Сибирского физико-технического института аграрных проблем Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук (СибФТИ СФНЦА РАН). Состав почвы – выщелоченный чернозем, с добавлением торфа и комплекса удобрений (суперфосфат и калийная соль). Грунт в горшок вносили поверх слоя дренажа. Процесс выращивания земляники проходил в естественных условиях.

Симфония – сорт земляники садовой среднепозднего срока созревания, десертного назначения использования. Был выведен в Шотландии в 1979 г. путем скрещивания разновидностей Рапсодия и Холидей. Растение мощное, многорожковое, обильно облиственное. Усообразование среднее. Листья жесткие, темно-зеленого окраса.

Элиани – среднеранний сорт земляники садовой короткого светового дня. Выведен специалистами голландской фирмы Vissers Aardbeiplanten B. V. в 1998 г., авторами являются Albert Konnings и Gebr. Vissers. Растение мощное, высокорослое. Усообразование на среднем уровне. Листья большие, светло-зеленого окраса с глянцевым блеском. Сорта перспективные, устойчивые к болезням, не районированные.

Макроскопическим методом трое экспертов отбирали необходимое количество здоровых и больных грибной болезнью листьев растений этих двух сортов. Степень поражения поверхности всех исследуемых листьев от воздействия гриба *Ramularia tulasnei* Sacc составляла 3–5%.

Исследования проводили с 19.09.2018 по 11.10.2018 при использовании флуориметра Dual-PAM-100 (см. рис. 1).

В контрольно-измерительный модуль флуориметра интегрированы все источники измерительного и актиничного света, а также фотодиодный детектор сигнала. Для проведения света к образцу и обратно применяется специальный гибкий оптоволоконный световод.

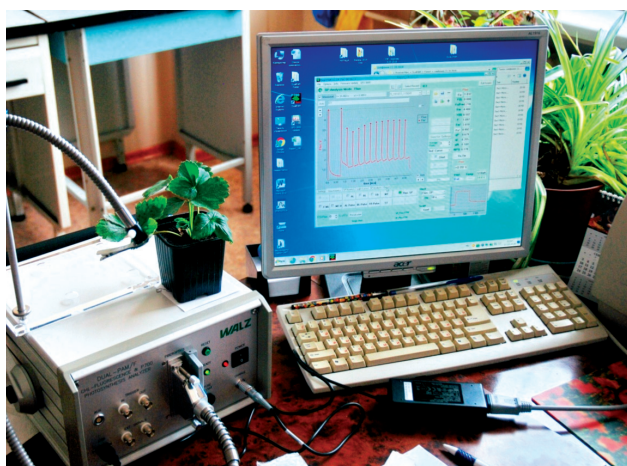


Рис. 1. Флуориметр Dual-PAM-100 для измерения параметров флуоресценции хлорофилла листьев земляники садовой

Fig. 1. The Dual-PAM-100 fluorimeter for measurement of chlorophyll fluorescence of garden strawberry leaves

Основные технические характеристики флуориметра:

- актиничный «красный» свет: светодиодная лампа «дальнего красного» света 720 нм;
- актиничный «синий» свет: «синяя» светодиодная лампа 460 нм;
- интерфейс для связи с компьютером: USB 1.1 и USB 2.0;
- длина оптоволоконного световода 1 м;
- активный диаметр световода 6 мм.

Управление флуориметром осуществлялось при помощи компьютера с операционной системой Windows по его специальной программе.

Флуоресценция испускается в основном молекулами хлорофилла *a* антенных комплексов фотосистемы 2 (ФС II) и связана не только с процессами в пигментной матрице и реакционном центре ФС II, но и с окислительно-восстановительными реакциями на донорной и акцепторной сторонах, и даже во всей цепи переноса электронов. Параметры флуоресценции являются наиболее информативными. Они определяются в режиме записи медленной кинетики темновых индукционных кривых с импульсным анализом насыщения [13].

Время задержки записи индукционных кривых после определения минимальной и

максимальной флуоресценции хлорофилла *a* (путем подачи импульса насыщения в адаптированные к темноте листья) составляло 40 с, что достаточно для полного повторного окисления акцепторов (открытия реакционных центров) ФС II перед записью индукционных кривых. Интервал между двумя последовательными импульсами насыщения при записи индукционных кривых был равен 20 с, время регистрации данных – около 4 мин.

Возбуждение молекул хлорофилла *a* осуществлялось «синим» светодиодом с длиной волны 460 нм, детектирование флуоресценции – «красным» фотодиодом с длиной волны 680 нм.

Исследования проводили в следующей последовательности.

1. Перед помещением листа земляники в держатель листа горшочки с растениями выдерживали в светонепроницаемой коробке не менее 5 мин.

2. Лист земляники закрепляли в держателе. В раскрывающемся меню в окне «Slow Kinetics» флуориметра выбирали режим записи «Ind Curve» и по истечении времени не менее 1 мин запускали программу измерений. В результате получали данные констант (F_o , F_m – минимальная и максимальная флуоресценция хлорофилла *a* в адаптированных к темноте объектах) и параметров (F_o' , F_m' – минимальная и максимальная флуоресценция хлорофилла *a* в адаптированных к свету объектах; F – выход флуоресценции; $Y(II)$ – эффективный квантовый выход фотосинтеза ФС II; $Y(NO)$ – квантовый выход нерегулируемой диссипации энергии (тепло); $Y(NPQ)$ – квантовый выход регулируемой диссипации энергии (флуоресценция); NPQ – мера доли световой энергии, потребляемой флуоресценцией; qP – мера доли световой энергии, потребляемой открытыми РЦ в реакциях фотосинтеза; qN – коэффициент нефотохимического тушения (тепло); qL – коэффициент фотохимического тушения (фотосинтез); $ETR(II)$ – скорость транспорта электронов).

3. Далее сравнивали измеренные параметры флуоресценции хлорофилла здоро-

вых и больных растительных тканей листьев земляники и делали вывод о наличии или отсутствии их связи с заболеванием белой пятнистостью.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Возбудители грибных болезней приводят к понижению интенсивности фотосинтеза. При этом происходит нарушение структуры фотосинтетического аппарата клеток (снижение числа хлоропластов на единицу площади листа, объема хлоропластов, концентрации хлорофилла) [21]. Снижение интенсивности фотосинтеза подтверждают и проведенные исследования здоровых и пораженных белой пятнистостью листьев двух сортов земляники садовой (см. рис. 2).

У растений энергия поглощенных квантов света используется в фотосинтезе, рассеивается в тепло и испускается в виде флуоресценции. Более низкий выход начальной флуоресценции F'_0 у здоровых растений свидетельствует о том, что на фотосинтез, то есть на развитие растения, затрачивается большая доля поглощенной световой энергии (см. рис. 3).

При закрытых реакционных центрах ФС II энергия не используется в фотосинте-

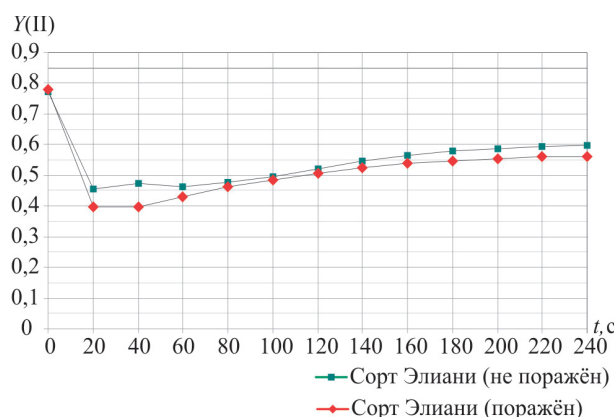


Рис. 2. Усредненные значения квантового выхода фотохимического превращения световой энергии – $Y(II)$ здоровых и пораженных листьев земляники садовой сорта Элиани (фотосинтез)

Fig. 2. Average values of quantum yield of light energy photochemical transformation – $Y(II)$ of healthy and diseased leaves of garden strawberry, cultivar Eliani (photosynthesis)

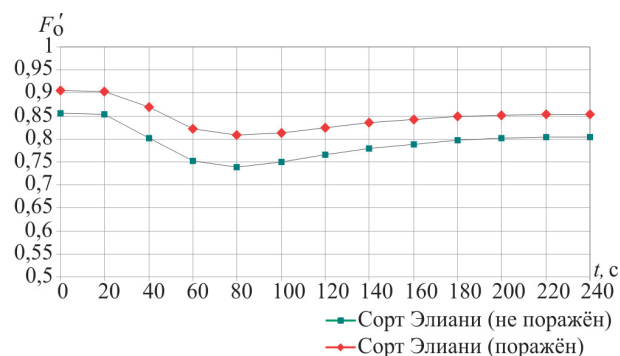


Рис. 3. Усредненные значения начальной флуоресценции F'_0 здоровых и пораженных листьев земляники садовой сорта Элиани

Fig. 3. Average values of initial fluorescence F'_0 of healthy and diseased leaves of garden strawberry, cultivar Eliani

зе, а расходуется на нефотохимическое тушение (тепло, флуоресценцию).

Приведенные усредненные значения квантового выхода нерегулируемой диссипации энергии, затрачиваемой на тепло, для двух сортов земляники (см. рис. 4, 5) свидетельствуют о том, что у больных растений эта доля больше.

Зависимости на представленных рисунках практически полностью идентичны, причем

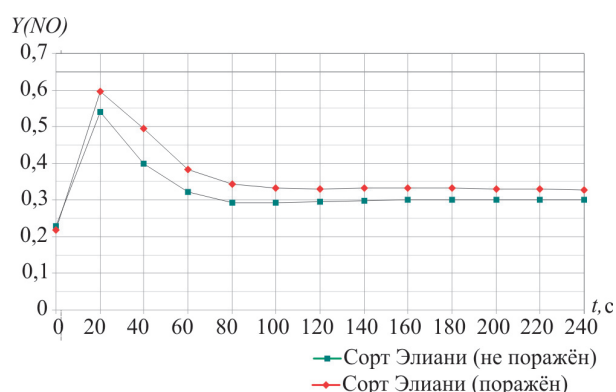


Рис. 4. Усредненные значения квантового выхода нерегулируемой диссипации энергии (тепло) – $Y(NO)$

$$Y(NO) = \frac{1}{NPQ + 1 + \left(\frac{F_m}{F_0 - 1}\right)}$$

здоровых и пораженных листьев земляники садовой сорта Элиани

Fig. 4. Average values of quantum yield of non-regulated energy dissipation (heat) – $Y(NO)$

of healthy and diseased leaves of garden strawberry, cultivar Eliani

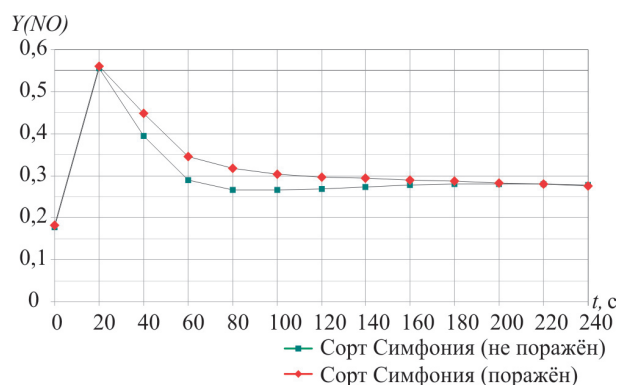


Рис. 5. Усредненные значения квантового выхода нерегулируемой диссипации энергии (тепло) – $Y(NO) = 1/(NPQ + 1 + qL(Fm/Fo - 1))$ здоровых и пораженных листьев земляники садовой сорта Симфония

Fig. 5. Average values of quantum yield of non-regulated energy dissipation (heat) – $Y(NO) = 1/(NPQ + 1 + qL(Fm/Fo - 1))$ of healthy and diseased leaves of garden strawberry, cultivar Symphony

значения квантового уровня $Y(NO)$ у слабо пораженных листьев значительно отличаются от значений $Y(NO)$ здоровых листьев земляники садовой исследуемых сортов.

Таким образом, отличие значений квантового выхода нерегулируемой диссипации энергии $Y(NO)$ у исследуемого растения и здорового растения может быть использовано для неинвазивной ранней диагностики белой пятнистости земляники.

Любой эффективный метод диагностики патологий растений, кроме обнаружения болезни, должен идентифицировать и количественно определять степень поражения растения грибом – возбудителем болезни. Надежная идентификация микроорганизмов, ответственных за заболевание растений, является важной предпосылкой для реализации стратегий борьбы с болезнями. Многие грибные болезни вызывают сходные симптомы и поэтому процесс выявления конкретного возбудителя и степени поражения им растения весьма затруднителен. В данных исследованиях такая задача не ставилась, и указанная проблема может быть решена при дальнейших исследованиях.

Положительному решению задачи идентификации грибных болезней земляники садовой способствует научная гипотеза, вы-

сказываемая многими учеными [20, 22–24]. Возбудители болезней и продуцируемые ими элиситоры связываются с рецептором организма-хозяина и запускают его защитную реакцию [20]. Предполагают, что растения синтезируют полифенолы в качестве защитного механизма в ответ на действие возбудителей грибной болезни, поскольку полифенолы действуют как антибиотик против микроорганизмов и грибов [20, 22–24]. Полифенолы, находящиеся в основном в эпидермисе, поглощают ультрафиолетовое излучение [24]. Часть ультрафиолетового излучения, которая проходит через эпидермис, поглощается хлорофиллом с определенным коэффициентом поглощения. Это поглощение вызывает дополнительную флуоресценцию. При исследовании спектра флуоресценции возможна идентификация грибных болезней земляники садовой [10–13, 25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлено, что у двух сортов земляники – Симфония и Элиани – гриб *Ramularia tulasnei* Sacc (возбудитель белой пятнистости) вызывает наиболее различимые и стабильные изменения следующих параметров флуоресценции хлорофилла растительных тканей листьев: квантовый выход фотохимического превращения световой энергии, минимальная флуоресценция хлорофилла n в адаптированных к свету объектах и квантовый выход нерегулируемой диссипации энергии.

При поражении этим биострессором двух сортов земляники – Симфония и Элиани – у параметра квантового выхода нерегулируемой диссипации энергии проявляются наиболее идентичные свойства по характеру его зависимости и текущим значениям.

По уровню квантового выхода нерегулируемой диссипации энергии возможно достоверное раннее неинвазивное обнаружение грибных болезней земляники садовой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Anand M. A Systems Approach to Agricultural Biosecurity // Health Security. Vol. 16. N 1. 2018. P. 1-11. DOI: 10.1089/hs.2017.0035.
2. Алейников А.Ф. Метод неинвазивного определения грибных болезней садовой земляники садовой // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2018. Том 48. № 3. С. 71–83. DOI: 10.26898/0370-8799-2018-3-10.
3. Трейвас Л.Ю., Каушанова О.Ф. Болезни и вредители плодовых растений: Атлас-определитель. изд. 3-е, исп. и доп.: монография. М.: ООО «Фитон XXI», 2016. 352 с.
4. Na Y.W., Ho J., Lee S.Y., Choi H.G., Kim S.H., Rho I.R. Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool for a biotic stress tolerance in wild and cultivated strawberry species // Horticulture Environment Biotechnology. 2014. Issue 55(4). P. 280–286. DOI: 10.1007/s13580-014-0006-9.
5. Hammond-Kosack K.E. Biotechnology: Plant Protection // Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. 2014. Vol. 2. P. 134-152. DOI: 10.1016/B978-0-444-52512-3.00248-5.
6. Lacasta J., Lopez-Pellicer F.J., Espejo-Garcia B., Nogueras-Iso J., Zarazaga-Soria F.J. Agricultural recommendation system for crop protection // Computers and Electronics in Agriculture. 2018. Vol. 152. P. 82–89. DOI: 10.1016/j.compag.2018.06.049
7. Ray M., Ray A., Dash S., Mishra A., Achary K.G., Nayak S., Singh S. Fungal disease detection in plants: Traditional assays, novel diagnostic techniques and biosensors // Biosensors and Bioelectronics. 2017. Vol. 87. P. 708–723. DOI: 10.1016/j.bios.2016.09.032
8. Шорников Д., Горелов П. Современные молекулярные методы диагностики болезней плодовых культур // Аналитика. 2015. № 4. С. 64–71.
9. Федоренко В.Ф., Мишуров Н.П., Неменущая Л.А. Перспективные технологии диагностики патогенов сельскохозяйственных растений: науч. аналит. обзор: монография. М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2018. 68 с.
10. Chen Ch., Gong N., Qu F., Gao Y., Fang W., Sun Ch., Men Z. Effects of carotenoids on the absorption and fluorescence spectral properties and fluorescence quenching of Chlorophyll *a* // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2018. Vol. 204. P. 440–445. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.06.061>.
11. Zhou Ch., Le J., Hua D., He T., Mao J. Imaging analysis of chlorophyll fluorescence induction for monitoring plant water and nitrogen treatments // Measurement. 2019. Vol. 136. P. 478-486. DOI: 10.1016/j.measurement.2018.12.088.
12. Banks J.M. Chlorophyll fluorescence as a tool to identify drought stress in Acer genotypes // Environmental and Experimental Botany. 2018. Vol. 155. P. 118–127. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2018.06.022.
13. Zhang Yu., Li G. Effects of cesium accumulation on chlorophyll content and fluorescence of Brassica juncea L. // Journal of Environmental Radioactivity. 2018. Vol. 195. P. 26–32. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2018.09.017.
14. Baker N.R., Rosenqvist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities // Journal of Experimental Botany. 2004. Issue 55. P. 1607–1621. DOI: 10.1093/jxb/erh196.
15. Dong Z., Men Yu., Li Z., Zou Qiu, Ji J. Chlorophyll fluorescence imaging as a tool for analyzing the effects of chilling injury on tomato seedlings // Scientia Horticulturae. 2019. Vol. 246. P. 490–497. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.11.019.
16. Li Y., Song H., Zhou L., Xu Z., Zhou G. Tracking chlorophyll fluorescence as an indicator of drought and rewatering across the entire leaf lifespan in a maize field // Agricultural Water Management. 2019. Vol. 211. P. 190–201. DOI: 10.1016/j.scienta.2019.02.056
17. Sayed O.H. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research // Photosynthetica. 2003. Issue 41. P. 321–330. DOI: 10.1023/b:phot.0000015454.36367.e2
18. Xiong-Bo L., Dan-Ying L., Qian-Qian W., Wei Y., Teng L., Zhi-Gang Y., Jun-Le Q. Recent progress of fluorescence lifetime imaging microscopy technology and its application // Acta Physica Sinica. 2018. Vol. 67 (17), P. 178701. DOI: 10.7498/aps.67.20180320.
19. Atta B.M., Saleem M., Ali H., Arshad H.M.I., Ahmed M. Chlorophyll as a biomarker for early disease diagnosis // Laser Physics. 2018. Vol. 28 (6), P. 065607. DOI: 10.1088/1555-6611/aab94f.
20. Tischler Y.K., Thiessen E., Hartung E. Early optical detection of infection with brown rust in winter wheat by chlorophyll fluorescence excitation spectra // Computers and Electronics in Agriculture. 2018. Vol. 146. P. 77–85. DOI: 10.1016/j.compag.2018.01.026.

21. Гольцев В.Н., Каладжи Х.М., Паунов М., Баба В., Хорачек Т., Мойски Я., Коцел Х., Аллахвердиев С.И. Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений // Физиология растений. 2016. Том 63. № 6. С. 881–907.
22. Dixon R.A. The phytoalexin response - elicitation, signaling and control of host gene-expression // Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society. 1986. Vol. 61 (3). P. 239–291.
23. Cerovic Z.G., Ounis A., Cartelat A., Latouche G., Goulas Y., Meyer S. The use of chlorophyll fluorescence excitation spectra for the non-destructive in situ assessment of UV-absorbing compounds in leaves // Plant, Cell Environ. 2002. Vol. 25 (12). P. 1663–1676. DOI: 10.1046/j.1365-3040.2002.00942.x
24. Anguelova V.S., van der Westhuizen A.J., Pretorius Z.A. Intercellular proteins and beta-1,3-glucanase activity associated with leaf rust resistance in wheat // Physiol. Plant. 1999. Vol. 106 (4). P. 393–401. DOI: 10.1034/j.1399-3054.1999.106406.x
25. Dhingra G., Kumar V., Joshi H.D. Study of digital image processing techniques for leaf disease detection and classification // Multimedia Tools and Applications. 2018. Vol. 77 (15). P. 19951–20000. DOI: 10.1007/s11042-017-5445-8
5. Hammond-Kosack K.E. Biotechnology: Plant Protection. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 2014, vol. 2, pp. 134–152. DOI: 10.1016/B978-0-444-52512-3.00248-5.
6. Lacasta J., Lopez-Pellicer F.J., Espejo-Garcia B., Nogueras-Iso J., Zarazaga-Soria F.J. Agricultural recommendation system for crop protection. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2018, vol. 152, pp. 82–89. DOI: 10.1016/j.compag.2018.06.049
7. Ray M., Ray A., Dash S., Mishra A., Achary K.G., Nayak S., Singh S. Fungal disease detection in plants: Traditional assays, novel diagnostic techniques and biosensors, *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, vol. 87, pp. 708–723. DOI: 10.1016/j.bios.2016.09.032
8. Shornikov D., Gorelov P. Sovremennyye molekulyarnyye metody diagnostiki boleznei plodovykh kul'tur [Horticultural crops disease advanced molecular diagnostics methods]. *Analitika [Analytics]*, 2015, no. 4, pp. 64–71. (In Russian).
9. Fedorenko V.F., Mishurov N.P., Nemenushchaya L.A. *Perspektivnye tekhnologii diagnostiki patogenov sel'skokhozyaystvennykh rastenii* [Perspective diagnostics technologies of agricultural plants' pathogens]. Moscow, FGBNU «Rosinformagrotekh» Publ., 2018, 68 p. (In Russian).
10. Chen Ch., Gong N., Qu F., Gao Y., Fang W., Sun Ch., Men Z. Effects of carotenoids on the absorption and fluorescence spectral properties and fluorescence quenching of Chlorophyll *a*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, vol. 204, pp. 440–445. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.06.061>
11. Zhou Ch., Le J., Hua D., He T., Mao J. Imaging analysis of chlorophyll fluorescence induction for monitoring plant water and nitrogen treatments. *Measurement*, 2019, vol. 136, pp. 478–486. DOI: 10.1016/j.measurement.2018.12.088
12. Banks J.M. Chlorophyll fluorescence as a tool to identify drought stress in Acer genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, 2018, vol. 155, pp. 118–127. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2018.06.022.
13. Zhang Yu., Li G. Effects of cesium accumulation on chlorophyll content and fluorescence of Brassica juncea L. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2018, vol. 195, pp. 26–32. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2018.09.017.
14. Baker N.R., Rosenqvist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop pro-

REFERENCES

1. Anand M. A Systems Approach to Agricultural Biosecurity. *Health Security*. 2018. Vol. 16. N 1. P. 1–11. DOI: 10.1089/hs.2017.0035
2. Aleinikov A.F. Metod neinvazivnogo opredeleniya gribnykh boleznei sadovoi zemlyaniki sadovoi [Method of non-invasive determination of fungal diseases of common garden strawberry]. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaystvennoi nauki* [Siberian Herald of Agricultural Science], 2018, vol. 48, no. 3, pp. 71–83. DOI: 10.26898/0370-8799-2018-3-10. (In Russian).
3. Treivas L.Yu., Kashtanova O.F. *Bolezni i vrediteli plodovykh rastenii: Atlas-opredelitel'. izd. 3-e*. [Diseases and pests of fruit plants: Atlas – determinant. 3d edition], Moscow, «Fiton XXI» Publ., 2016, 352 c. (In Russian).
4. Na Y.W., Ho J., Lee S.Y., Choi H.G., Kim S.H., Rho I.R. Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool for a biotic stress tolerance in wild and cultivated strawberry species. *Horticulture Environment Biotechnology*, 2014, Issue 55(4), pp. 280–286. DOI: 10.1007/s13580-014-0006-9.

- duction strategies: An examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 2004, Issue 55, pp. 1607–1621. DOI: 10.1093/jxb/erh196.
15. Dong Z., Men Yu., Li Z., Zou Qiu, Ji J. Chlorophyll fluorescence imaging as a tool for analyzing the effects of chilling injury on tomato seedlings. *Scientia Horticulturae*, 2019, vol. 246, pp. 490–497. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.11.019
16. Li Y., Song H., Zhou L., Xu Z., Zhou G. Tracking chlorophyll fluorescence as an indicator of drought and rewatering across the entire leaf lifespan in a maize field. *Agricultural Water Management*, 2019, vol. 211, pp. 190–201. DOI: 10.1016/j.scienta.2019.02.056.
17. Sayed O.H. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. *Photosynthetica*, 2003, Issue 41, pp. 321–330. DOI: 10.1023/b:phot.0000015454.36367.e2
18. Xiong-Bo L., Dan-Ying L., Qian-Qian W., Wei Y., Teng L., Zhi-Gang Y., Jun-Le Q. Recent progress of fluorescence lifetime imaging microscopy technology and its application. *Acta Physica Sinica*, 2018, vol. 67 (17), pp. 178701. DOI: 10.7498/aps.67.20180320.
19. Atta B.M., Saleem M., Ali H., Arshad H.M.I., Ahmed M. Chlorophyll as a biomarker for early disease diagnosis. *Laser Physics*, 2018, vol. 28 (6), pp. 065607. DOI: 10.1088/1555-6611/aab94f.
20. Tischler Y.K., Thiessen E., Hartung E. Early optical detection of infection with brown rust in winter wheat by chlorophyll fluorescence excitation spectra. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2018, vol. 146, pp. 77–85. DOI: 10.1016/j.compag.2018.01.026.
21. Gol'tsev V.N., Kaladzhi Kh.M., Paunov M., Baba V., Khorachek T., Moiski Ya., Kotsel Kh., Allakhverdiev S.I. Ispol'zovanie peremennoi fluorestsentsii khlorofilla dlya otsenki fiziologicheskogo sostoyaniya fotosinteticheskogo apparata rastenii [Variable chlorophyll fluorescence and its use for assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus]. *Fiziologiya rastenii* [Russian Journal of Plant Physiology], 2016, vol. 63, no. 6, pp. 881–907. (In Russian).
22. Dixon R.A. The phytoalexin response - elicitation, signaling and control of host gene-expression. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 1986, vol. 61 (3), pp. 239–291.
23. Cerovic Z.G., Ounis A., Cartelat A., Latouche G., Goulas Y., Meyer S. The use of chlorophyll fluorescence excitation spectra for the non-destructive in situ assessment of UV-absorbing compounds in leaves. *Plant, Cell Environ*, 2002, vol. 25 (12), pp. 1663–1676. DOI: 10.1046/j.1365-3040.2002.00942.x
24. Anguelova V.S., van der Westhuizen A.J., Pretorius Z.A. Intercellular proteins and beta-1,3-glucanase activity associated with leaf rust resistance in wheat. *Physiol. Plant*, 1999, vol. 106 (4), pp. 393–401. DOI: 10.1034/j.1399-3054.1999.106406.x
25. Dhingra G., Kumar V., Joshi H.D. Study of digital image processing techniques for leaf disease detection and classification. *Multimedia Tools and Applications*, 2018, vol. 77 (15), pp. 19951–20000. DOI: 10.1007/s11042-017-5445-8.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ **Алейников А.Ф.**, доктор технических наук, главный научный сотрудник; **адрес для переписки:** Россия, 630501, Новосибирская область, р.п. Краснообск, СФНЦА РАН, а/я 463; e-mail: fti2009@yandex.ru

Минеев В.В., старший научный сотрудник

Финансовая поддержка

Работа поддержана бюджетным проектом СФНЦА РАН № 0778-2019-0001.

Авторы выражают благодарность коллективу лаборатории экспериментальных исследований СФНЦА РАН (биополитон) за тщательную подготовку образцов, экспертизу по определению болезни растений и степени поражения её листовой поверхности земляники садовой.

AUTHOR INFORMATION

✉ **Aleynikov A.F.**, Doctor of Science in Engineering, Head Researcher; **address:** PO Box 463, SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia; e-mail: fti2009@yandex.ru

Mineev V.V., Senior Researcher

Дата поступления статьи 26.02.2019
Received by the editors 26.02.2019