

Изменение элементов фенольного метаболизма у винограда при заражении милдью на фоне прайминга микроорганизмами

Вадим Валерьевич Вялков, магистрант, e-mail: 935346@bk.ru;

Мария Андреевна Сундырева, канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр., e-mail: taurim2012@yandex.ru

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства,

виноградарства, виноделия.

г. Краснодар, ул. 40-летия Победы, д.39

Работа посвящена изучению изменений в фенольном метаболизме винограда с различной устойчивостью к милдью при применении прайминга микроорганизмами. Исследования были проведены на двух гибридных формах винограда селекции ФГБНУ СКФНЦСВВ, отличающихся по устойчивости к милдью. В качестве агента прайминга были выбраны симбионтные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* (S.C.). Было установлено существенное снижение развития милдью на листовых дисках, обработанных S.C. Более восприимчивая к милдью ТАНА 33 демонстрировала отложенную по времени реакцию, связанную с изменением общего содержания фенольных соединений, чем более устойчивая форма ТАНА 42. Обработка S.C. приводила к синтезу ресвератрола у обеих гибридных форм. При непосредственном заражении у ТАНА 33 содержание микроботоксичного виниферина увеличилось на 24 часа быстрее, чем у ТАНА 42, но изначально более высокое его содержание в листьях ТАНА 33 через 48 и 96 часов после обработки заметно снижалось, что говорит о повышенном расходе и недостаточной скорости восполнения, возможно, высоким уровнем ингибирования синтеза его предшественника ресвератрола со стороны патогена. Гваяколовая пероксидаза принимает участие в преобразовании ресвератрола в виниферин. Показано, что существенного роста её активности у ТАНА 33 не происходило ни в один из периодов измерений. В противоположность этому, активность гваяколовых пероксидаз увеличивалась у ТАНА 42 через 48 часов после заражения на фоне S.C. Аналогичная тенденция прослеживалась по активности полифенолоксидазы. Хаотичные изменения в содержании стильбенов, низкая ферментативная активность у формы ТАНА 33 может свидетельствовать либо о недостаточном сигнальном пути, либо об отклонениях в процессе. Для формы ТАНА 42 характерна согласованная динамика содержания фенольных соединений, стильбенов, активности ферментов, более ранняя реакция на возбудителя на фоне обработки S.C.

Ключевые слова: виноград; прайминг; фенольные соединения; иммунитет растений

ORIGINAL RESEARCH

Changes in the elements of phenolic metabolism in grapevine upon infection with downy mildew on the background of priming with microorganisms

Vadim Valerievich Vyalkov, Mariya Andreevna Sundyeva

Federal State Budget Scientific Institution North-Caucasian Federal Scientific Centre of Horticulture, Viticulture, Winemaking, 39, 40-letiya Pobedy Str., 350901, Krasnodar, Russia

Changes in phenolic metabolism were studied in two hybrid forms of grapevine using priming with microorganisms. The study forms were released by the North-Caucasian Centre of Horticulture, Viticulture and Winemaking and have different resistance to downy mildew. Symbiont yeast *Saccharomyces cerevisiae* (S.C.) entered as priming agent. A considerably lower development of the disease was registered on leaf disks treated with S.C. The form TAHA 33 which is more susceptible to downy mildew showed a time-delayed response associated with changes in levels of total phenolic compounds in comparison to the form TAHA 42 with a better resistance to downy mildew. Resveratrol synthesis was induced in both study forms by S.C. treatment. Following a direct infection with downy mildew, TAHA 33 showed a 24 h earlier increase in the level of microbe-toxic viniferin than TAHA 42. Nevertheless, 48 and 96 h after the treatment, the initially higher level of viniferin in TAHA 33 leaves went down considerably, which suggests a higher utilization and insufficient replenishment rate of this substance, probably, due to high inhibition of the synthesis of resveratrol, its precursor, by the pathogen. Transformation of resveratrol into viniferin is assisted by guaiacol peroxidase. No substantial increase in its activity was registered in TAHA 33 in any measurement time interval. On the contrary, TAHA 42 showed an increase in guaiacol peroxidase activity 48 h after infection with downy mildew on the background of S.C. treatment. Polyphenol oxidase activity showed a similar tendency. Chaotic changes in stilbene levels and low fermentation activity in TAHA 33 may indicate either an insufficient signaling pathway or aberrations of the process. A concurrent dynamics as to the levels of phenolic compounds and stilbenes and the enzymatic activities as well as an earlier response to the pathogen against the S.C. treatment are characteristic for TAHA 42.

Key words: grapevine; priming; phenolic compounds; plant immunity

Введение. Трудно переоценить роль фенольных соединений в организме растений: они являются основными элементами многих метаболических путей, играют роль фитогормонов, защищают клетки растений от окислительного стресса, являются элементами растительного иммунитета и многое другое. Среди множества путей метаболизма фенольных соединений существует такое ответвление от фенилпропаноидного метаболического пути, как синтез стильбенов. Эти соединения для растений играют важную роль, защищая их от различных биотрофных патогенов [1, 2], УФ-излучения [3], окислительного стресса [4] и других опасностей. Однако у данного механизма есть существенная слабость – весьма длинный метаболический путь [5], а, следовательно, высокая вероятность нарушения пути биосинтеза. При этом множество грибковых патогенов способно на-

Как цитировать эту статью:

Вялков В.В., Сундырева М.А. Изменение элементов фенольного метаболизма у винограда при заражении милдью на фоне прайминга микроорганизмами // «Магарач». Виноградарство и виноделие, 2019; 21(4); С. 317-323. DOI 10.35547/IM.2019.21.4.008 (in Russian)

How to cite this article:

Vyalkov V.V., Sundyeva M.A. Changes in the elements of phenolic metabolism in grapevine upon infection with downy mildew on the background of priming with microorganisms. Magarach. Viticulture and Winemaking, 2019; 21(4): 317-323. DOI 10.35547/IM.2019.21.4.008 (in Russian)

УДК 581.1.036:634.8

Поступила 12.11.2019 г.

Принята к публикации 18.11.2019

© Авторы, 2019

рушать биосинтез стильбенов [6].

В настоящее время существует необходимость в разработке новых стратегий защиты винограда от распространения основных фитопатогенов, не зависящих от применения пестицидов и генетической устойчивости к единственному возбудителю. Использование защитных способностей иммунной системы растений в сочетании с другими стратегиями может иметь хороший потенциал для лучшей защиты сельскохозяйственных культур. Фенольные соединения растений являются одним из основных барьеров на пути инфицирования патогенами, в связи с чем изучение особенностей их биосинтеза у винограда при разработке новых стратегий защиты имеет важное значение, как в практическом растениеводстве, так и в потенциальном применении в биотехнологии.

Цель работы – изучение изменений в фенольном метаболизме винограда с различной устойчивостью к милдью при применении прайминга микроорганизмами.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на листьях винограда двух гибридных форм, отличающихся по устойчивости к милдью: высокоустойчивая форма ТАНА 42 и слабоустойчивая форма ТАНА 33. Листья были собраны на полевом участке в г. Краснодар. Обработки BS – *Bacillus subtilis*, TV – *Trichoderma viride*, SC – *Saccharomyces cerevisiae*, Vi – *Venturia inaequalis*, контроль – вода – проводили путем нанесения капель объемом 25 мкл на лист. Через 24 часа наносили споры *Plasmopara viticola* (PV) путем опрыскивания. Микроорганизмы были выбраны по следующим причинам: BS и TV – антагонистические микроорганизмы, применяемые в растениеводстве для защиты от различных групп патогенов; SC – винные дрожжи – являются естественными симбионтами винограда, заселяющими его ягоды и вегетативные органы; Vi была выбрана в качестве агента прайминга, так как является несовместимым для винограда грибным патогеном.

Эффективность применяемых обработок оценивали на основании развития милдью на листовых дисках диаметром 2 см как процент площади диска, покрытой спороношением. Листовые диски получали при помощи пробочного сверла диаметром 2 см из бессимптомных листьев винограда двух гибридных форм, собранных на полевом участке. В каждом варианте эксперимента использовали 50-60 листовых дисков. Листья обрабатывали 70%-ным этанолом, промывали дистиллированной водой, помещали в чашки Петри с влажной фильтровальной бумагой и обрабатывали исследуемыми микроорганизмами путем нанесения капель объемом 25 мкл на листовую диск. Заражение милдью проводили путем опрыскивания листовых дисков споровой суспензией через 24 часа после применения исследуемых микроорганизмов [7]. Спороношение наблюдалось через 96 часов после инокуляции PV.

Определение содержания метаболитов проводили через 24, 48, 72 и 96 часов после

обработки микроорганизмами при заражении PV и без него.

Для определения общего содержания фенольных соединений и флавоноидов готовили экстракт путем инкубации 0,1 г образца в течение ночи в темноте при +4°C в 2 мл 95%-ного этанола. На следующий день центрифугировали при 15000g 15 минут, супернатант использовали для дальнейших анализов. Определение содержания общих фенольных соединений проводили по методу Фолина-Чокалтеу [8]. Определение содержания флавоноидов проводили по методике, описанной Chang Ch. et al. (2002) [9].

Экстракцию ферментов проводили по методике, описанной Сундыревой М.А. (2015) [10]. Ферментативную активность полифенолоксидазы (РРО) измеряли с использованием катехола в качестве субстрата согласно методике, описанной Queiroz Ch. et al. (2011). Активность РРО измеряли по увеличению поглощения при 420 нм с использованием спектрофотометра Unico2800 UV/VIS (США) [11]. Активность гваяколовой пероксидазы определяли по методике, описанной Н.А. Радюкиной с соавторами (2012) [12]. Содержание стильбенов определялось методом капиллярного электрофореза [13].

Результаты и обсуждение. Более устойчивая к милдью форма ТАНА 42 поражалась патогеном в 1,5 раза меньше, чем слабоустойчивая форма ТАНА 33 (рис. 1). Обработка SC показала очень высокую эффективность, поэтому были исследованы изменения в составе и содержании различных классов фенольных соединений в сравнении с контрольным вариантом.

Для выявления отличий между двумя гибридными формами винограда были измерены основные элементы фенольного метаболизма, а именно, содержание фенольных соединений, трёх основных видов стильбенов: ресвератрола, виниферина, пицеида, флавоноидов, активность в растворе гваяколовой пероксидазы и полифенолоксидазы в листьях винограда без обработок до применения микроорганизмов и заражения милдью (табл.).

Преобладающим среди стильбенов являлся пицеид, что подтверждается данными о количественном соотношении стильбенов в различных частях виноградного растения [14]. Полученные данные так же демонстрируют ещё одну закономерность: более

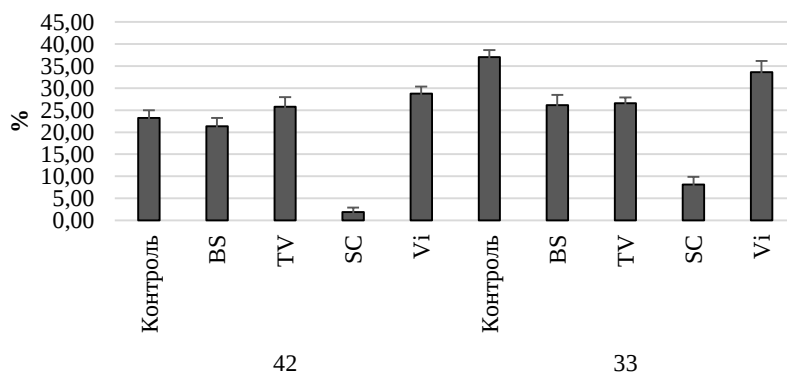


Рис. 1. Поражение винограда милдью на фоне обработок микроорганизмами
Figure 1. Infection of grapevine with downy mildew on the background of microbial treatments

Таблица. Содержание различных фенольных соединений и активность связанных ферментов листьев винограда

Table. Levels of various phenolic compounds in grape leaves

Показатель	ТАНА 33	ТАНА 42
Общее содержание фенольных соединений, мг.экв. галловой кислоты/г сырой массы	30,90 ± 2,03	32,34 ± 4,15
Флавоноиды, мг/г сырой массы	5,65 ± 0,26	4,42 ± 0,08
Ресвератрол, мг/дм ³	6,3 ± 0,60	1,95 ± 0,23
Пицеид, мг/дм ³	23,15 ± 0,68	17,15 ± 0,38
Виниферин, мг/дм ³	8,95 ± 0,88	2,35 ± 0,08
Активность гваяколовых пероксидаз, е.а./мг белка	9,97 ± 0,70	9,04 ± 0,46
Активность полифенолоксидазы, е.а./мг белка	76,07 ± 5,56	104,48 ± 5,18

устойчивый сорт имеет изначально более низкий уровень стильбенов, чем менее устойчивый, с другой стороны, активность полифенолоксидазы и содержание промежуточных соединений у него несколько выше. Это можно объяснить тем, что устойчивые сорта обладают более высокой скоростью синтеза и трансформации фенольных соединений [15].

Содержание фенольных соединений при воздействии патогена, обработке S.C. и комбинированном воздействии с течением времени у исследуемых форм изменялось также неодинаково: обработка S.C. привела у ТАНА 42 к повышению общего содержания фенольных соединений через 24 часа, непосредственно на заражение патогеном повышение их содержания происходило через 72 часа, а при заражении на фоне обработки S.C. – через 96 часов. В листьях формы ТАНА 33 содержание фенольных соединений возросло независимо от способа воздействия. При этом на обработку S.C. без заражения обе формы отреагировали непродолжительным повышением содержания фенольных соединений, с последующим спадом. Причём ТАНА 33 демонстрирует более отложенную по времени реакцию. Общее снижение содержания фенольных соединений относительно контроля говорит

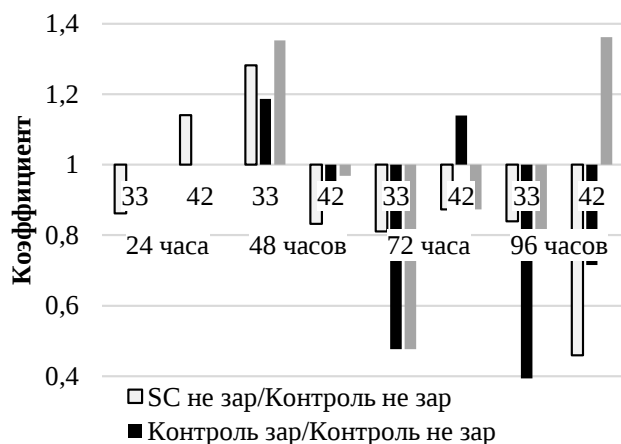
об активации различных биосинтетических процессов, в которых эти вещества необходимы, без увеличения их собственной выработки, а отдельные подъёмы – об активации метаболических путей их биосинтеза (рис. 2) [5].

Следующим этапом является образование флавоноидов. Полученные результаты практически полностью повторяли изменения содержания фенольных соединений на всём протяжении времени исследования у формы ТАНА 42. Вероятно влияние окислительного стресса, переориентирующего метаболизм на синтез стильбенов, преимущественно над синтезом флавонола [16].

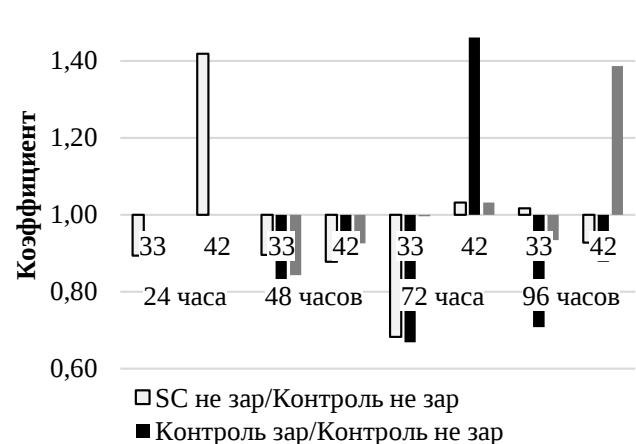
Отдельно стоит отметить динамику флавоноидов у формы ТАНА 33 через 48 часов, после обработки: на данный момент времени был зафиксирован подъём содержания фенольных соединений, однако содержание флавоноидов не только ниже контроля, но и не изменилось за 24 часа, если обратить внимание на содержание при обработке S.C. без заражения (рис. 2). Таким образом, образец ТАНА 33, вероятно, демонстрировал несколько отстающую реакцию на заражение как патогеном, так и S.C.

Ресвератрол и пицеид обладают слабой токсической активностью в отношении *P. viticola*, в то время как d-виниферин является высокотоксичным [17]. Тем не менее, ресвератрол также может расходоваться на сопротивление патогену без трансформации [18]. В исследовании изменения содержания ресвератрола было установлено, что обе гибридные формы синтезировали его при обработке S.C., причём можно наблюдать сначала резкий спад его содержания у ТАНА 33 и последующее нарастание к 72 часам. При заражении же картина несколько другая: у ТАНА 42 обнаруживается резкий подъём к 72 часам с последующим спадом, а у ТАНА 33 содержание хоть и всегда находится ниже контроля, но колеблется около контрольных значений (рис. 3).

Отмечено, что у устойчивых форм синтезированный ресвератрол сразу трансформируется в виниферин [19], в то время как у слабоустойчивых ресвератрол сначала трансформируется в пицеид, а потом уже

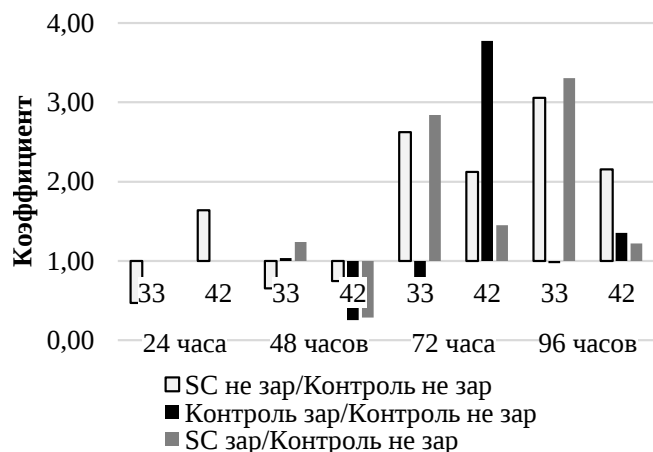


Изменение общего содержания фенольных соединений
Changes in levels of total phenolic compounds

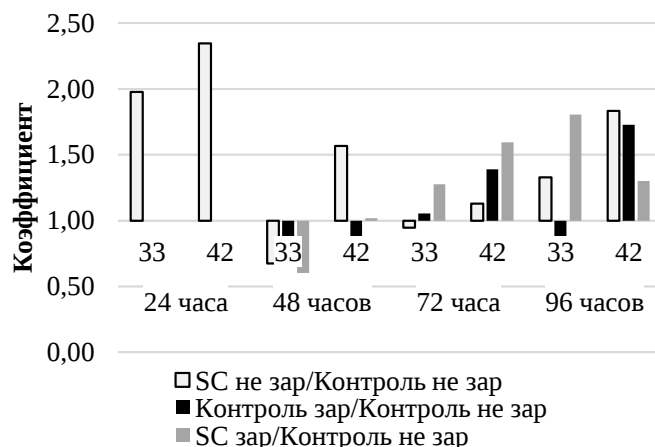


Изменение содержания флавоноидов
Changes in levels of flavonoids

Рис. 2. Изменение содержания фенольных соединений в листьях винограда относительно контроля
Figure 2. Changes in levels of phenolic compounds in grape leaves relative to the control



Изменение содержания ресвератрола
Changes in resveratrol levels



Изменение содержания пицеида
Changes in piceid levels

Рис. 3. Изменение содержания ресвератрола и пицеида в листьях винограда относительно контроля
Figure 3. Changes in resveratrol and piceid levels in grape leaves relative to the control

в виниферин [20]. Согласно полученным данным, содержание пицеида, при обработке S.C., но без заражения, у обеих форм увеличивалось. При этом реакция в виде увеличения синтеза произошла через 24 часа, так же наблюдалось и повторное возрастание, спустя короткий период спада, отмеченный через 48 часов. Исходя из этого можно сделать вывод, что обе формы реагируют на S.C. как на патоген, что, наиболее вероятно, связано с его поверхностными молекулярными структурами, распознаваемыми растением. При заражении растения образование пицеида начало повышаться спустя 72 часа, дополнительное воздействие S.C. усилило эффект у обеих форм (рис. 3).

Как уже упоминалось ранее, именно виниферин является наиболее токсичным для патогенов соединением и его выработка растениями является более мощным защитным механизмом при заражении. Полученные данные свидетельствуют о том, что при непосредственном заражении у ТАНА 33 содержание виниферина увеличилось на 24 часа быстрее, чем у ТАНА 42. С другой стороны, изначально в образцах ТАНА 33 содержалось больше виниферина, чем у ТАНА 42, но через 48 и 96 часов после обработки обнаруживается заметное снижение его содержания, что говорит о повышенном расходе и недостаточной скорости восполнения, возможно, высоким уровнем ингибирования синтеза его предшественника ресвератрола со стороны патогена [21, 22]. Наиболее же сильной оказалась реакция ТАНА 42 на обработку S.C. без заражения, постепенно ослаблявшаяся со временем. Сочетание заражения и обработки S.C. привело к снижению продукции виниферина у обеих форм. Объяснить подобное можно тем, что ранняя реакция организма растения на S.C. приводит к быстрому истощению запасов метаболита, в то же время препятствуя распространению PV (рис. 4).

Гваяколовая пероксидаза, как и другие, фенольные пероксидазы, принимает участие в преобразовании ресвератрола в виниферин, поэтому изменение её активности может

быть показателем изменения скорости исследуемого пути биосинтеза [23]. Это утверждение подтверждается полученными результатами: условия и время, при которых происходит увеличение активности гваяколовой пероксидазы в исследуемых образцах совпадает со скачками количества стильбенов. Также стоит обратить внимание на то, что существенных увеличений её активности у ТАНА 33 не происходило ни в один из периодов измерений. В противоположность этому, активность гваяколовых пероксидаз увеличивалась у ТАНА 42 через 48 часов после заражения на фоне S.C. Полифенолоксидаза – фермент, катализирующий гидроксирование О-монофенолов в О-дифенолы и окисление молекулярным кислородом дифенолов в хиноны. Субстратом для полифенолоксидазы являются монофенолы (аминокислоты тирозин — оксифенилаланин), дифенолы (пирокатехин, кофейная кислота) и трифенолы (хлорогеновая кислота). Активность полифенооксидазы обеспечивает появление таких защитных производных, как лигнин. Динамика активности полифенолоксидазы аналогична предыдущему ферменту у обеих изученных форм винограда. Разница в функционировании этих ферментов прослеживалась у ТАНА 33 в более интенсивном снижении активности полифенолоксидазы при всех типах

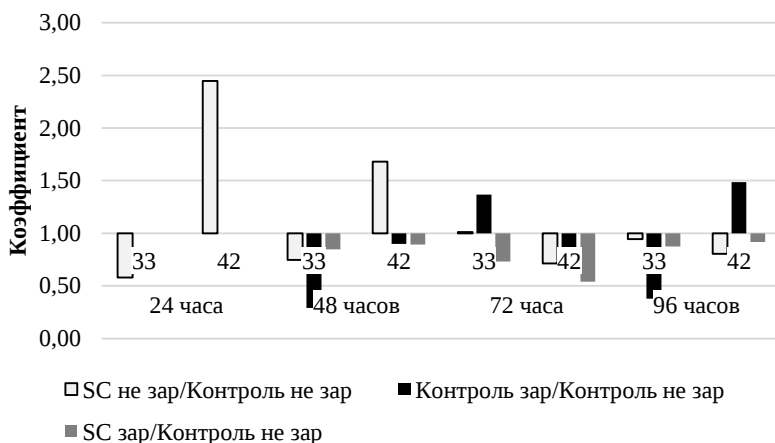
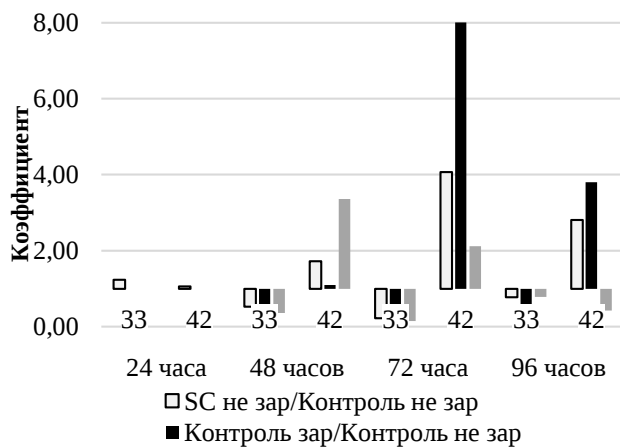
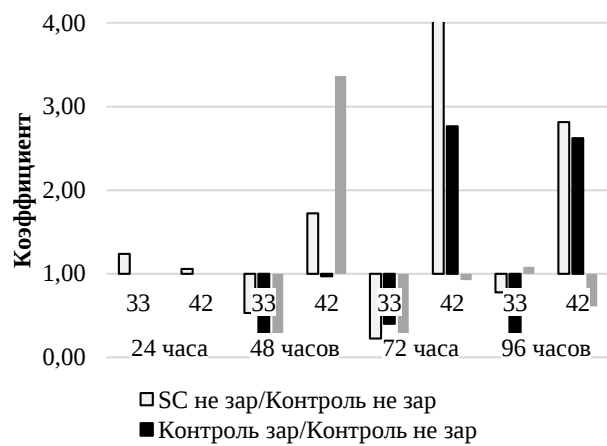


Рис. 4 Изменение содержания виниферина в листьях винограда относительно контроля
Figure 4. Changes in viniferin levels in grape leaves relative to the control



Изменение активности гваяколовой пероксидазы
Changes in guaiacol peroxidase activity



Изменение активности полифенолоксидазы
Changes in polyphenol oxidase activity

Рис. 5. Изменение активности гваяколовой пероксидазы и полифенолоксидазы относительно контроля
Figure 5. Changes in guaiacol peroxidase and polyphenol oxidase activities relative to the control

воздействия. Для ТАНА 42 было характерно большее положительное влияние на активность полифенолоксидазы обработки SC, нежели заражения PV, в сравнении с активностью гваяколовой пероксидазы через 72 часа после обработки (рис. 5).

Есть сведения, что устойчивые сорта демонстрируют специфический хронологический набор событий при заражении, который не наблюдается у чувствительных генотипов, начиная с увеличения активных форм кислорода, сопровождаемого гиперчувствительным ответом, увеличения активности пероксидазы в клетках, фланкирующих зону инфекции, и, наконец, увеличения содержания фенольных соединений [24].

Таким образом, у образца ТАНА 33 мы наблюдали подъём уровня фенольных соединений через 48 часов при любой обработке, чего нельзя сказать об образце ТАНА 42, так как рост синтеза фенольных соединений произошёл раньше (через 24 часа), поскольку устойчивые сорта характеризуются большей скоростью реакции. Говоря о ТАНА 33, стоит заметить, что подъём содержания фенольных соединений и его последующий спад никак не коррелирует с данными как по стильбенам, так и с данными по фенолпропаноидам. Следующим этапом является уже образование ресвератрола из кумароил-КоА. Изменения наступают только при обработке S.C., а при заражении практически нет отклонений от нормы. Аналогичная ситуация с пицеидом. В содержании виниферина есть одно повышение (72 часа), стоящее особняком, но схожее по картине с таковой у ТАНА 42. Вместе с виниферинами птеростильбен является одной из наиболее токсичных форм стильбена, в 10 раз более токсичной, чем ресвератрол [25].

Можно предположить, что у образца ТАНА 33 используются до 72 часов собственные запасы стильбенов, которых у него больше, чем у образца ТАНА 42. В пользу этой теории говорит и снижение активности ферментов, участвующих в их биосинтезе (полифенолоксидазы и гваяколовой пероксидазы). При этом заметны скачкообразные изменения содержания стильбенов (по истечении 48 часов всех разновидно-

стей стильбенов мало, по истечении 72 часов – количество резко растёт, через 96 часов – заметный спад). Подобная хаотичная картина синтеза может свидетельствовать либо о недостаточном сигнальном пути, либо об отклонениях в процессе. Есть утверждения, что патогены могут угнетать синтез стильбенов путём подавления экспрессии необходимых для синтеза белков [26], но наблюдаемая активность ферментов ниже среднего при любой обработке и на всём протяжении исследования говорит в пользу первого предположения.

У образца ТАНА 42 есть совпадения в динамике содержания фенольных соединений, фенилпропаноидов и стильбенов, что определённо говорит об осуществлении процессов синтеза стильбенов. При этом самым ярким примером является содержание всех этих соединений через 72 часа после любой обработки. Стоит отметить, что обработка патогеном и S.C. приводит к более раннему увеличению активности ферментов и, соответственно, снижению содержания стильбенов в дальнейшей перспективе (рис. 4–7). Это позволяет предположить, что обработка растений S.C. вызвала более раннюю реакцию на патоген, с одной стороны, приводящую к более быстрому истощению пула метаболитов-предшественников, но, с другой стороны, за счёт более раннего ответа, позволяющую растению справиться с патогеном на ранних стадиях заражения. Характер влияния S.C. на растение аналогичен воздействию вакцины на человеческий организм.

Изменения, наступающие по истечении 96 часов после заражения, также могут свидетельствовать о начале нового роста синтеза стильбенов, что может быть связано с циклами развития милдью (PV). В ранее проведённых исследованиях отмечается тотальное повышение стильбенов через 12 и 26 дней после заражения патогеном [26].

Выводы. Установлено существенное снижение развития милдью на листовых дисках, обработанных *Saccharomyces cerevisiae* (S.C.) Более восприимчивая к милдью ТАНА 33 демонстрировала отложенную по

времени реакцию, связанную с изменением общего содержания фенольных соединений, чем более устойчивая форма ТАНА 42. Обработка S.C. приводила к синтезу ресвератрола у обеих гибридных форм. При непосредственном заражении у ТАНА 33 содержание микроботоксичного виниферина увеличилось на 24 часа быстрее, чем у ТАНА 42, но изначально более высокое его содержание в листьях ТАНА 33 через 48 и 96 часов после обработки заметно снижалось, что говорит о повышенном расходе и недостаточной скорости восполнения, возможно, высоким уровнем ингибирования синтеза его предшественника ресвератрола со стороны патогена. Гваяколовая пероксидаза принимает участие в преобразовании ресвератрола в виниферин. Существенного роста её активности у ТАНА 33 не происходило ни в один из периодов измерений. В противоположность этому активность гваяколовых пероксидаз увеличивалась у более устойчивой формы ТАНА 42 через 48 часов после заражения на фоне S.C. Аналогичная тенденция прослеживалась по активности полифенолоксидазы. Хаотичные изменения в содержании стильбенов, низкая ферментативная активность у формы ТАНА 33 может свидетельствовать либо о недостаточном сигнальном пути, либо об отклонениях в процессе. Для формы ТАНА 42 характерна согласованная динамика содержания фенольных соединений, стильбенов, активности ферментов, более ранняя реакция на возбудителя на фоне обработки S.C. Обработка растений S.C. вызвала более раннюю реакцию на патоген, приводящую к более быстрому истощению пула метаболитов-предшественников, с одной стороны, но, с другой стороны, за счёт более раннего ответа позволяющая растению справиться с патогеном на ранних стадиях заражения.

Источник финансирования:

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-016-00210 А

Financing source

The research was supported by the grant of the Foundation of Fundamental Research of Russia № 19-016-00210 А.

Конфликт интересов

Не заявлен.

Conflict of interests

Not declared.

Благодарности

Выражаем признательность Насонову А.И. и Антоненко М.В. – за предоставление штаммов микроорганизмов для проведения исследований.

Acknowledgment

The authors are grateful to A.I. Nasonov and M.V. Antonenko for providing strains of microorganisms for study.

Список литературы/References

1. Kortekamp A. Expression analysis of defence-related genes in grapevine leaves after inoculation with a host and a non-host pathogen // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2006. Vol. 44 (1). pp. 58-67. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0981942806000234>
2. Pezet R., Gindro K., Viret O., et al. Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively

associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2003. Vol. 65. pp. 297–303. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0885576505000482>

3. Супрун А.Р., Огнева З.В., Дубровина А.С. и др. Действие р-кумаровой и кофейной кислоты, а также ультрафиолета-С на накопление стильбенов и экспрессию генов, участвующих в биосинтезе стильбенов в хвое Ели Аянской *Picea Jezoensis* // Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды: труды Всерос. науч. конф. 2018. С. 742-743
Suprun A.R., Ogneva Z.V., Dubrovina A.S. The effect of r-coumaric and caffeic acid, as well as ultraviolet-C on the accumulation of stilbenes and the expression of genes involved in the biosynthesis of stilbenes in the needles of Ayan *Picea Jezoensis*. Mechanisms of resistance of plants and microorganisms to unfavorable environmental conditions: Proceeding of All-Russia scientific conference. 2018. pp. 742-743 (in Russian)
4. Mellersh D. G., Foulds I. V. H₂O₂ plays different roles in determining penetration failure in three diverse plant–fungal interactions // *The Plant Journal*. 2002. Vol. 29. pp. 257-268. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.0960-7412.2001.01215.x>
5. Хелдт Г. Биохимия растений. М. 2014. С. 322
Heldt Hans-Walter. Plant biochemistry. An update transl. from the Germ. 3rd ed. Amsterdam [etc.]: Elsevier Academic Press. 2014. P. 322
6. Vannozzi A., Dry I., Fasoli B. et al. Genome-wide analysis of the grapevine stilbene synthase multigenic family: genomic organization and expression profiles upon biotic and abiotic stresses. *BMC Plant Biol.* 2012. pp. 112-130. URL: <https://bmcpantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2229-12-130>
7. Ghasemzadeh A., Nasiri A., Jaafar H.Z. et al. Changes in phytochemical synthesis, chalcone synthase activity and pharmaceutical qualities of Sabah Snake Grass (*Clinacanthus nutans* L.) in relation to plant age molecules. *Molecules*. 2014. Vol. 19. pp.17632-17648. URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/19/11/17632>
8. Chang Ch., Yang M., Wen H., Chern J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2002. Vol. 10. №. 3. pp. 178-182.
9. Сундырева М.А. Физиолого-биохимические методы оценки адаптационных признаков винограда // Инструментальные методы оценки исходного и селекционного материала винограда для высококачественного виноделия. Краснодар. 2015. С. 42-47.
Sundyreva M.A. Instrumental methods to evaluate initial and breeding grapevine material for quality winemaking. Krasnodar. 2015. pp. 42-47. (in Russian)
10. Queiroz Ch., da Silva A. J. R., Mendes Lopes M. L., Fialho E., Valente-Mesquita V. L. Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) after processing. *Food Chemistry*. 2011. № 125. pp. 128-132. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610010514>
11. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений. под ред Кузнецова В.В. М: Бином, 2012. С. 355-356.
Molecular-genetic and biochemical methods in modern plant biology. Kuznecov V.V. (Editor). Moskow: Binom, 2012. pp. 355-356 (in Russian)
12. Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству. Краснодар, 2010. С. 279-283

- Methodological and analytical support of horticultural research. Krasnodar, 2010. pp. 279-283 (in Russian)
13. Fröbel S., Dudenhöffer J., Töpfer R. et al. Transcriptome analysis of early downy mildew (*Plasmopara viticola*) defense in grapevines carrying the Asian resistance locus Rpv10 // *Euphytica*. 2019. pp. 215-228. URL: https://scholar.google.ru/scholar?hl=ru&as_sdt=0%2C5&q=6.%09Fr%C3%B6bel+S.%2C+Dudenh%C3%B6ffer+J.%2C+T%C3%B6pfer+R.%2C+et+al.+Transcriptome+analysis+of+early+downy+mildew+%28Plasmopara+viticola%29+defense+in+grapevines+carrying+the+Asian+resistance+locus+Rpv10+%2F%Euphytica.+2019.+P.+215-228.+&btnG=
 14. Corio-Costet M.F. Monitoring resistance in obligate pathogens by bioassays relating to field use: grapevine powdery and downy mildews fungicide resistance in plant pathogens. 2015. pp. 251-279. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-4-431-55642-8_16
 15. Aziz A., Verhagen B., Magnin-Robert M. et al. Effectiveness of beneficial bacteria to promote systemic resistance of grapevine to gray mold as related to phytoalexin production in vineyards. *Plant and Soil*, 2016. Vol. 405. pp. 141-153. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-015-2783-z>
 16. Hasan M., Bae H. An overview of stress-induced resveratrol synthesis in grapes: perspectives for resveratrol-enriched grape products. *Molecules*. 2017. Vol. 22, 294. doi:10.3390/molecules22020294. URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/2/294>
 17. Chitarra W., Perrone I., Avanzato C. G. et al. Grapevine grafting: scion transcript profiling and defense-related metabolites induced by rootstocks. *Front. Plant Sci*. 2017. Vol. 8. doi: 10.3389/fpls.2017.00654. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.00654/full>
 18. Richard T., Abdelli-Belhad A., Xavier V. et al. *Vitis vinifera* canes, a source of stilbenoids against downy mildew. *OENO One*. 2016. Vol. 50. pp. 137-143. URL: <http://oenone.eu/article/view/1178>
 19. Dercks W., Creasy L.L. The significance of stilbene phytoalexins in the *Plasmopara viticola*-grapevine interaction. *Physiol. Mol. Plant Pathol*. 1989. Vol. 34. pp. 189-202. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/088557658990043X>
 20. Hok S., Attard A., Keller H. Getting the most from the host: how pathogens force plants to cooperate in disease. *The American Phytopathological Society*. 2010. Vol. 23. pp. 1253-1259. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/MPMI-04-10-0103>
 21. Kortekamp A., Zyprian E. Characterization of *Plasmopara*-resistance in grapevine using in vitro plants. *Journal of Plant Physiology*. 2003. Vol. 160. pp. 1393-1400. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0176161704705325>
 22. Carvalho L. C., Vidigal P., Amancio S. Oxidative stress homeostasis in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Front. Environ. Sci*. 2015. Vol. 3. doi: 10.3389/fenvs.2015.00020. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2015.00020/full>
 23. Способ получения ресвератрола: пат. 2326165 РФ. Федореев С.А., Киселев К.В., Дубровина А.С., и др. Заявл. 05.10.06; Опубл. 10.06.08. - Бюл. № 16. - 8 с. URL: <http://www.freepatent.ru/patents/2326165>
Fedoreyev S.A., Kiselev K.V., Dubrovina A.C. A method to obtain resveratrol: pat. Pat. 2326165 RF. Zayavl. Filed 05.10.06; Publ. Opubl. 10.06.08. - Byul. Bull. № 16. p. 8. URL: <http://www.freepatent.ru/patents/2326165> (in Russian)
 24. Milli A., Cecconi D., Bortesi L. et al. Proteomic analysis of the compatible interaction between *Vitis vinifera* and *Plasmopara viticola*. *Journal of Proteomics*. Vol. 75. 2012. P. 1284-1302. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874391911005574>
 25. Lachman J., Kotíková Z., Hejtmánková A. et al. Resveratrol and piceid isomers concentrations in grapevine shoots, leaves, and tendrils. *Horticultural Science*. 2016. Vol. 43. P. 25-32. URL: https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/258_2014-HORTSCI.pdf

ORCID iD:

Вялков В.В. – 0000-0003-1152-5091

Сундырева М.А. – 0000-0002-1338-1725