

УДК 633.11:632.4.07

## РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА SEPTORIA NODORUM BERK. У ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ

Г. Г. ГУСЕЙНОВ, Н. Н. ТРЕТЬЯКОВ, Е. И. КОШКИН, Т. И. АНДРЕЕВ<sup>1</sup>

(Кафедра физиологии растений)

Дается характеристика изменения фотосинтеза, дыхания, кинетики замедленной флуоресценции, содержания пигментов в листьях и разности биоэлектрических потенциалов у двух сортов пшеницы, различающихся по устойчивости к септориозу, с момента заражения до появления внешних признаков болезни. Показано, что норма реакции изучаемых процессов у сортов пшеницы зависит от степени поражения растений и ее изменения характеризуют развитие патологического процесса.

Установлено, что о внедрении патогена сигнализируют изменения фотосинтеза, дыхания и разности потенциалов, появляющиеся на 8—9 дней раньше проявления внешних признаков болезни. Не выявлено однозначной связи изменения кинетики замедленной флуоресценции с поражением растения патогеном.

При разработке экономических и безопасных мероприятий по защите сельскохозяйственных культур от болезней немаловажную роль играет своевременная диагностика этих болезней, в том числе точные сведения о причинах заболевания.

Идентифицировать возбудителя болезни удастся лишь в единичных случаях. Обычно для этого используются специальные фитопатологические методы диагностики. Любую фитопатологическую диагностику начинают с анализа симптомов болезни, однако последние, как правило, проявляются гораздо позже,

чем ответные реакции растения-хозяина на внедрение патогена.

Мы предположили, что получение данных об отклонении физиологических параметров от нормы у растений под воздействием патогенов и применение защитных мероприятий до появления внешних признаков болезни дадут положительный эффект.

Изменения физиологических параметров пшеницы, пораженной септориозом, установлены многими авторами [5, 14, 15 и др.]. Однако в литературе пока мало данных, полученных при изучении реакций растения-хозяина на уровне целого растения, а также о связи таких реакций с заболеванием.

<sup>1</sup> ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии.

Цель нашей работы — изучить динамику некоторых физиологических параметров у пшеницы с момента заражения до появления симптомов болезни с целью выявления возможности использования этих изменений в качестве сигнала о начале патологического процесса.

### Методика

Объектами исследования были два сорта яровой пшеницы — Саратовская 29 и Саратовская 42, по данным НИИ фитопатологии относящиеся соответственно к восприимчивым и относительно устойчивым к поражению септориозом сортам.

Опыты проводились в фитотроне и вегетационном домике Тимирязевской академии. Растения выращивали в песчаной культуре на смеси Кнопа (1,5 нормы). В фитотроне продолжительность освещения составляла 16 ч в сутки, интенсивность — около 550 мкмоль квантов  $m^{-2} \cdot c^{-1}$  на уровне верхних листьев.

#### Фитопатологические тесты:

— инокуляцию проводили водной суспензией спор *Septoria nodorum* Berk. ( $1 \cdot 10^6$  спор/мл);

— суспензию наносили на растения равномерно с помощью пульверизатора, после чего растения помещали во влажную камеру на 24 ч [8].

О степени поражения растений судили по площади пораженных органов с использованием международной шкалы Джеймса [12].

#### Физиологические тесты:

— видимый фотосинтез и дыхание микроценоза пшеницы в сосудах определяли в открытой системе при постоянной температуре  $20^\circ \pm \pm 0,5^\circ C$ , учитывая количество  $CO_2$  в токе воздуха, прошедшего через камеру; регистрирующий прибор —

инфракрасный газоанализатор ГИП-10 МБ 2А;

— кинетику замедленной флуоресценции листьев измеряли с помощью установки, работающей на базе цилиндрического фосфороскопа со временем между освещением образца и измерением свечения  $3 \cdot 10^{-3}$  с;

— пигменты выделяли из гомогената листьев 85 % ацетоном. Концентрацию хлорофиллов *a* и *b* и суммарных каротиноидов определяли на спектрофотометре Specol (ГДР) и рассчитывали по формуле Реббелена [7];

— разность биоэлектрических потенциалов между субстратом и основанием 4-го листа (наиболее уязвимого в момент заражения) регистрировали милливольтметром постоянного тока (рН-метром) на 15 растениях из каждого варианта.

Все параметры определяли до заражения и ежедневно с момента инфицирования в первой половине дня в фазу кущения в контрольных и опытных вариантах.

### Результаты

В статье рассматриваются данные, полученные при двух степенях поражения листьев пшеницы — 10 и 25 %. Характер и динамика изменений параметров были аналогичны в обоих случаях, но степень отклонения физиологических параметров у больного растения относительно здоровых была различной. Поэтому на рисунках представлены данные, полученные при 25 %-ном поражении листьев.

Нами установлено, что снижение содержания хлорофилла *a* в листьях растений восприимчивого и устойчивого сортов составило соответственно 18 и 8 %, а хлорофилла *b* — 11 и 6 %. По содержанию суммарных каротиноидов существ-

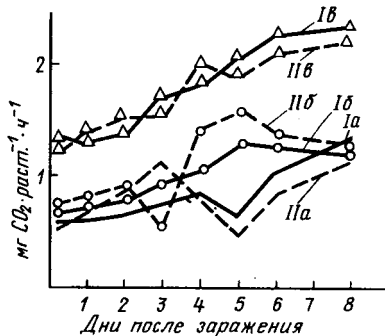


Рис. 1. Видимый фотосинтез (а), дыхание (б) иgross-фотосинтез (в) у здоровых (I) и больных (II) растений пшеницы сорта Саратовская 29, зараженных *Septoria nodorum* Berk.

венного различия между здоровыми и больными растениями не наблюдалось.

Зависимость флуоресценции от многих факторов затрудняет однозначную интерпретацию полученных данных при установлении связи этого показателя с физиологическим состоянием больного растения. Нами отмечено снижение соотношения  $F_m/F_T$  у больных растений в течение 2—4 дней после заражения в среднем на 15—17 %. Выбор параметра  $F_m/F_T$  определяет-

ся тем, что именно участок  $F_m - F_T$  индукционной кривой соответствует активации углеродного цикла [1].

Видимый фотосинтез микроценоза больных растений превышал значение этого показателя у здоровых на 3-й день инфицирования (рис. 1).

Если при слабом поражении листьев больные растения мало отличались по фотосинтетической активности от здоровых, то при поражении 25 % уже с 4-го дня у них регистрировалось снижение фотосинтеза на 15—20 %, а в момент появления внешних признаков болезни — в среднем на 45 %.

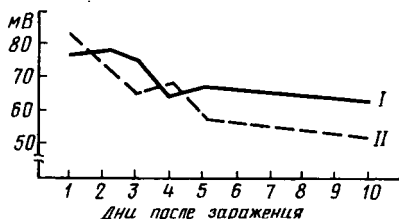


Рис. 2. Разность потенциалов между субстратом и основанием 4-го листа здоровых (I) и больных (II) растений пшеницы сорта Саратовская 29, зараженных *Septoria nodorum* Berk.

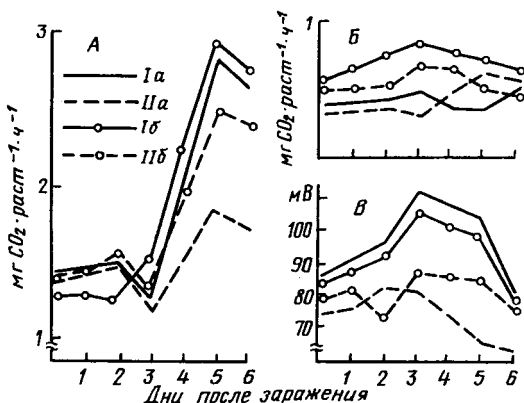


Рис. 3. Видимый фотосинтез (а), дыхание (б) и разность потенциалов (в) между субстратом и основанием 4-го листа у здоровых (I) и больных (II) растений сортов яровой пшеницы, зараженной *Septoria nodorum* Berk. Саратовская 29 (а) и Саратовская 42 (б).

Активация дыхания у больных растений отмечена на 4-й день после заражения. Превышение интенсивности их дыхания по сравнению с контролем при 10 % поражении листьев составило 10—15 %, при 25 % — 20—25 %. Вместе с тем суммарный газообмен больных и здоровых растений существенно не различался (рис. 1).

Таким образом, изменения видимого фотосинтеза в ответ на внедрение патогена наступают на 9 дней раньше, чем появляются внешние признаки болезни, а изменения дыхания — на 8 дней раньше.

У больных растений под воздействием септориоза происходила деполаризация. Существенное уменьшение разностей потенциалов больных растений при слабом поражении наблюдалось с 9-го дня после заражения, а при более сильном — с 3-го дня (рис. 2). Аналогичные данные были получены в вегетационном опыте.

У устойчивого сорта различия между большими и здоровыми растениями по определяемым параметрам выражались в меньшей степени, чем у восприимчивого (рис. 3).

### Обсуждение

Имеются данные [2, 4, 9] о том, что содержание хлорофилла в пораженных листьях ниже, чем в здоровых. Вместе с тем некоторые авторы [11, 13] не отмечали изменений этого показателя, по крайней мере в течение первых 10 дней после заражения мучнистой росой ячменя и пшеницы.

Влияние инфекции на содержание пигментов в значительной мере зависит не только от степени поражения, но также от стадии развития болезни и состояния самого растения. Снижение количества хлорофилла при поражении определяется

либо прямым разрушением хлоропластов вегетирующим мицелием, либо подавлением синтеза белковой основы пластид.

Как известно, часть энергии возбужденной молекулы хлорофилла расходуется в виде флуоресценции, которая не является ни отраженным, ни пропущенным светом: это излучение, которое образуется непосредственно в листе [10]. Зависимость колебания флуоресценции от стрессовых факторов, в том числе и от влияния патогена, очевидна, хотя многое еще остается неясным. Однако нет особых оснований сомневаться в том, что изменение амплитуды колебаний флуоресценции связано с «попыткой» регулирующего механизма восстановить контроль после нарушения стабильности.

Результаты исследований влияния грибной инфекции растений на их фотосинтез [4, 9, 16] свидетельствуют о том, что активность фотосинтеза меняется в зависимости от способности паразита извлекать для себя энергию питательного субстрата.

В рассматриваемом здесь опыте пигментный состав больного растения представлял для нас интерес как важнейший компонент аппарата фотосинтеза и мы не предполагали связывать изменение содержания пигментов с реакцией растения на поражение.

Наблюдаемое нами активирование фотосинтеза непосредственно после заражения и последующее снижение можно объяснить транслोकационными процессами в инфицированном растении. Вначале они благоприятствуют протеканию фотосинтеза, однако возрастающее аккумулярование питательных веществ патогеном приводит к снижению его активности. При этом изменение скорости фотосинтеза объясняется изменениями концентраций

питательных веществ не только в самом очаге инфекции, но и в прилегающих к нему участках.

Несмотря на сложность характера изменений фотосинтетической активности больного растения, этот параметр может быть индикаторным при диагностике заболевания.

Монографии и обзоры [4, 9, 17], посвященные исследованиям дыхания больного растения, полученные нами экспериментальные данные показывают, что его интенсивность, как правило, возрастает независимо от вида инфекции. Характер изменения энергии дыхания питающего растения, являясь надежным и типичным признаком патологического процесса, указывает на степень совершенства паразитизма и пути воздействия паразита на живые элементы хозяина. Сравнительные исследования газообмена дают, кроме того, надежный материал для суждения о причинах и размерах вредности болезни.

При поражении растения, по-видимому, происходит накопление метаболитов в очаге инфекции и вокруг него, что и обуславливает увеличение скорости дыхания. У инфицированных растений имеется множество механизмов, регулирующих скорость метаболических процессов. Большинство реакций в этих процессах протекает с участием АТФ, для образования которой нужны АДФ и Р. Концентрация АДФ в пораженной клетке в значительной мере определяется разобшением окисления и фосфорилирования, в результате чего она накапливается и стимулирует интенсивность дыхания.

Анализ характера изменений дыхания больного растения позволяет сделать вывод, что данный показатель можно использовать для ранней диагностики грибного заболевания.

Биоэлектрические явления играют определенную роль в патогенезе

растений. У инфицированных растений иным становится избирательное распределение ионов и т. д. Все это, по-видимому, сказывается на их электрической активности. Электрические свойства, например электропроводность, меняются в связи с патогенезом [3]. Можно полагать, что наблюдаемое снижение разности потенциалов у больных растений связано с изменением комплекса физиологических процессов: возбуждения в месте поражения, изменения ионного потока, обмена вещества и функционирования, патологического отклонения от нормы.

В заключение следует отметить, что определение таких физиологических параметров, как фотосинтез, дыхание и разность потенциалов, может быть использовано для ранней диагностики грибных заболеваний растений селекционерами-исследователями при создании сортов с целью повышения эффективности работы.

Изменение того или иного физиологического параметра дает возможность судить примерно о степени поражения растений, не имеющих видимых признаков болезни.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Карапетян Н. В., Бухов Н. Г. Переменная флуоресценция хлорофилла как показатель физиологического состояния растений.— Физиол. растений, 1986, т. 33, вып. 5, с. 1013—1026.— 2. Кокин А. Я. Физиологические и анатомические исследования больного растения.— Петрозаводск: Гос. изд-во Карело-Финской ССР, 1948.— 3. Колесниченко Г. С. Электрофизиологические параметры как индикаторы в диагностике заболеваний некоторых сельскохозяйственных культур.— Автореф. канд. дис. Кишинева, 1969.— 4. Купревич В. Ф. Физиология больного растения в связи с общими вопросами паразитизма.— М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1947.— 5. Пересыткин В. Ф., Коваленко С. Н. Влияние

возбудителя септориоза озимой пшеницы на некоторые биохимические процессы в растениях.— Науч. тр. УСХА, 1977, № 200, с. 89—93.— 6. *Пересыпкин В. Ф., Коваленко С. Н.* Изменение некоторых физиологических процессов в листьях озимой пшеницы под воздействием возбудителя септориоза.— Науч. тр. УСХА, 1978, вып. 209, с. 67—69.— 7. Практикум по физиологии растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. 2-е изд., перераб. и доп.— М.: Колос, 1982, с. 89—90.— 8. *Пыжикова Г. В., Санина А. А., Супрун Л. М. и др.* Методы оценки устойчивости селекционного материала и сортов пшеницы к септориозу (методические указания).— М.: ВАСХНИЛ, 1989.— 8. *Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Аксенова В. А.* Биохимия и физиология иммунитета растений.— М.: Высшая школа, 1975.— 10. Фотосинтез и био-

продуктивность: методы определения / Пер. с англ. Под ред. и с предисл. А. Т. Мокроносова.— М.: Агропромиздат, 1989, с. 179—184.— 11. *Haspelova — Horvatovicova A.*— Acta Inst. Bot. Acad. Sci. Slov. Ser. 1976, Bd 1, p. 141—151.— 12. *James W. L.*— Canad Plant Diseases Survey, 1971, vol. 51, N 2, p. 36—65.— 13. *Thornton I. D., Cooke R. C.*— Physiol. Plant Pathol., 1974, vol. 4, N 1, p. 117—125.— 14. *Verret I. A.*— Mitt. Biol. Bundesanst. Lnd u. Forstwirtschaft.— Berlin—Dahlem, 1984, N 223, S. 242.— 15. *Verret I. A., Hoffmann G. M.*— Z. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz, 1987, N 5, S. 462—477.— 16. *Wood R. K. L.* Physiological plant pathol.— Oxford a. Edinburgh: Blackwell Scientific Publications, 1967.— 17. *Yarwood C. E.*— Ann. Rev. Plant Physiol., 1967, vol. 18, p. 419—438.

Статья поступила 8 февраля 1991 г.

#### SUMMARY

Changes in photosynthesis, respiration, kinetics of retarded fluorescence, amount of pigments in leaves, and difference in bioelectric potentials from the moment of infecting up to appearance of visual symptoms have been defined in two wheat varieties differing in their resistance to septoria spot. It has been found that changes in photosynthesis, respiration, and difference in potentials that appear 8—9 days before the visual symptoms of the disease indicate the penetration of the pathogen. No direct connection between changes in kinetics of retarded fluorescence and affection of plant by the pathogen has been observed.