

УДК 581.198:631.95

UDC 581.198:631.95

ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО ОТВЕТА РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА РАЗЛИЧНОГО ФИТОСАНИТАРНОГО СОСТОЯНИЯ

CHANGING THE PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THE IMMUNE RESPONSE OF GRAPE PLANTS OF DIFFERENT PHYTO-SANITARY CONDITION

Сундырева Мария Андреевна
канд. с.-х. наук

Sundyreva Mariya Andreevna
Cand.Agr.Sci.

Талаш Анна Ивановна
канд. с.-х. наук

Talash Anna Ivanovna
Cand.Agr.Sci.

Колмыков Артем Евгеньевич
аспирант

Kolmykov Artem Evgenyevich
graduate student

Ненько Наталия Ивановна
д-р с.-х. наук
ФГБНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, Краснодар, Россия

Nenko Nataliya Ivanovna
Dr.Agr.Sci
Federal State Institution North-Caucasian Zonal Research Institute of Horticulture and Viticulture, Krasnodar, Russia

В статье приведены результаты изучения динамики физиолого-биохимических показателей иммунного ответа винограда различной устойчивости к воздействию грибных патогенов

The results of the study of the dynamics of physiological and biochemical parameters of the immune response of grapes to fungal pathogens are given in the article

Ключевые слова: ВИНОГРАД, ИММУНИТЕТ, ПОРАЖАЕМОСТЬ, ГРИБНЫЕ ПАТОГЕНЫ

Keywords: GRAPES, IMMUNITY, AFFECTION, FUNGAL PATHOGENS

Воздействие биотических стрессоров на растения винограда способно значительно снизить продуктивность виноградника и время его эксплуатации. Большое значение при этом имеет сопротивляемость растения воздействию патогенов. Фитоиммунитет обеспечивается множеством физиологических механизмов, изучение которых позволит в дальнейшем контролировать динамику системы «многолетнее растение – природная среда» и снизить экологическую нагрузку и затраты на возделывание культуры.

Физиологический ответ растения на воздействие патогена начинается с восприятия стрессового сигнала. В результате активируются сигнальные системы, индуцирующие развитие набора активных механизмов устойчивости растения. При взаимодействии растений с неспециализированными паразитами существенны механизмы пассивного

иммунитета. При взаимодействии растений со специализированными паразитами, обладающими способностью преодолевать механизмы пассивного иммунитета, срабатывают механизмы активного иммунитета [5, 7]. К ним можно отнести немедленные ответы, сопровождающиеся реакцией сверхчувствительности, формирование локальной и системной устойчивости, при которых происходит синтез особых белков, фитоалексинов [8, 9, 10].

Длительность и скорость наступления каждой из фаз иммунного ответа растений, согласно литературным источникам, определяется биологией паразита и хозяина и является видоспецифичной.

Нами проводились параллельные физиолого-биохимические исследования и учеты поражения милдью растений винограда различной устойчивости к этому патогену. Целью работ было выяснение роли различных физиолого-биохимических компонентов иммунного ответа в интенсивности поражения винограда милдью у различающихся по устойчивости форм.

Методика исследований. Учет поражения растений милдью проводили по методике, разработанной ВИЗР [1]. Учет проводился по 5-ти балльной шкале. Содержание аминокислот, фенолкарбоновых кислот, ресвератрола— методом капиллярного электрофореза на приборе Капель 104Т [4], содержание пигментов – по Гавриленко [2]. Стабильность мембранного комплекса листьев (коэффициент повреждения мембран) изучаемых сорто-подвойных комбинаций винограда оценивали в модельном опыте по изменению проводимости дистиллированной воды, в которую помещались листья исследуемых растений. Выход электролитов измерялся кондуктометром Агат 2М после воздействия температуры 55 °С, 100 °С и при комнатной температуре. Расчет коэффициента повреждения мембран проводился по методике Н.Н. Кожушко [3]. Эффективность первичных процессов фотосинтеза рассчитывалась по формуле, представленной в [6].

Результаты исследований и их обсуждение. Исследования проводились на вегетационной площадке СКЗНИИСиВ в г. Краснодар. Объектами исследований являлись гибридные формы винограда: ТАНА 33, ТАНА 42, ТАНА 68 различного видового происхождения, обладающие различной степенью устойчивости к грибным заболеваниям винограда. Кусты 2010 года посадки, плодоносящие, формировка – высокоштамбовый односторонний кордон. Обработки от грибных болезней на участке не проводятся.

Учеты по развитию и распространению милдью проводили с интервалом в 14 дней. До 08.07. учет милдью проводили на листьях основных побегов, а с 21.07 учитывали развитие болезни на листьях пасынковых побегов.

Первые признаки заболевания появились 10 июня 2014 года. Наиболее активно болезнь развивалась на сорте Тана 33, распространение составило 48,9% (рис. 1). Учет от 25 июня показал относительную устойчивость к этому времени у сорта Тана 42.

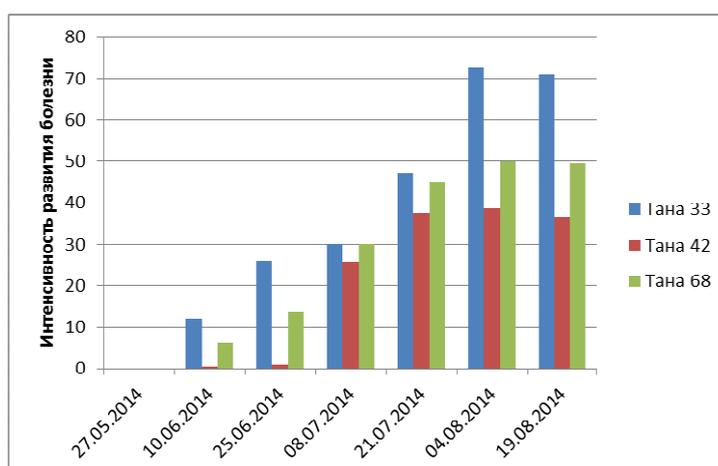


Рисунок 1 – Интенсивность развития милдью

Дожди 5 и 25 июля дали дополнительную возможность для эпифитотийного развития милдью. Интенсивность развития заболевания в

период с 8 июля по 19 августа увеличилась с 25,8 до 71,1%. Как и в период с 10 по 25 июня сорт Тана 42 оставался более устойчив, в сравнении с сортами Тана 33 и Тана 68.

Большая интенсивность развития и распространения милдью связана с двумя причинами: месторасположение участка (виноградник закрыт со всех сторон, не проветривался) и отсутствие обработок против болезни.

В наибольшей степени милдью поражались растения гибридной формы ТАНА 33, наиболее устойчивыми были растения ТАНА 42.

Нами определялось содержание лигнина, фенолкарбоновых кислот, ресвератрола, пигментов, стабильность мембран в течение вегетации для выявления физиолого-биохимических критериев, определяющих иммунный статус винограда.

Содержание «сырого лигнина» в листьях винограда приведено на рисунке 2.

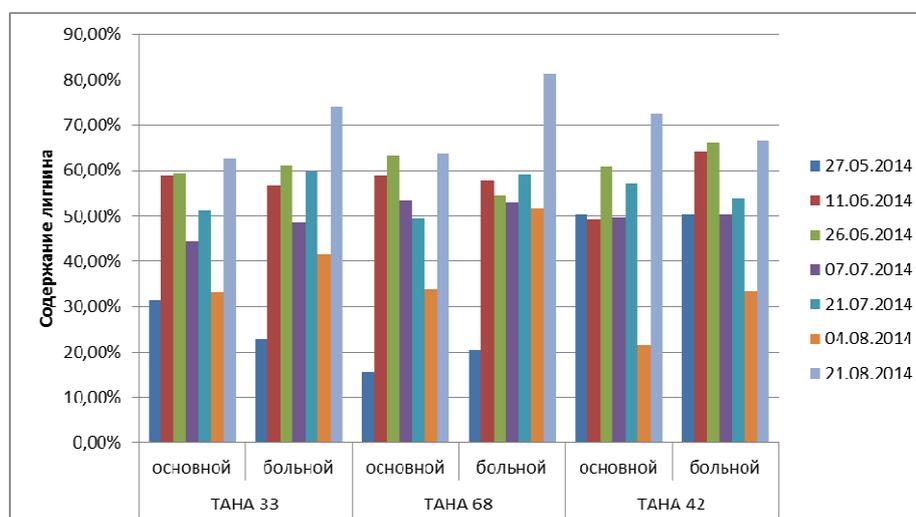


Рисунок 2 – Содержание лигнина в листьях винограда

Содержание «сырого лигнина» в листьях винограда возрастало в первой декаде июня, потом постепенно снижалось до минимума в первой декаде августа. В третьей декаде августа было отмечено резкое увеличение

содержание лигнина в листьях. Наиболее устойчивая форма ТАНА 42 отличалась самыми низкими показателями содержания лигнина в листьях в начале августа. У всех изучаемых форм лигнификация тканей листа была более интенсивной в пораженных листьях, чем в непораженных (основных) листьях (рис. 2).

Содержание хлорогеновой кислоты в листьях изучаемых форм возрастало в третьей декаде июля-первой декаде августа. В непораженных (основных) листьях менее устойчивой формы ТАНА 33 максимальное содержание хлорогеновой кислоты отмечено в начале августа, а в пораженных листьях накопление хлорогеновой кислоты происходило в конце июля, а затем снижалось, что, вероятно, связано сееметаболизацией. У устойчивой формы ТАНА 42 в начале августа происходит значительное увеличение содержания хлорогеновой кислоты в листьях. В непораженных листьях содержание хлорогеновой кислоты ниже, чем в пораженных листьях. У формы ТАНА 68 в третьей декаде июля увеличивается, а затем снижается в непораженных листьях, а в больных листьях отмечено постепенное увеличение содержания хлорогеновой кислоты (рис. 3).

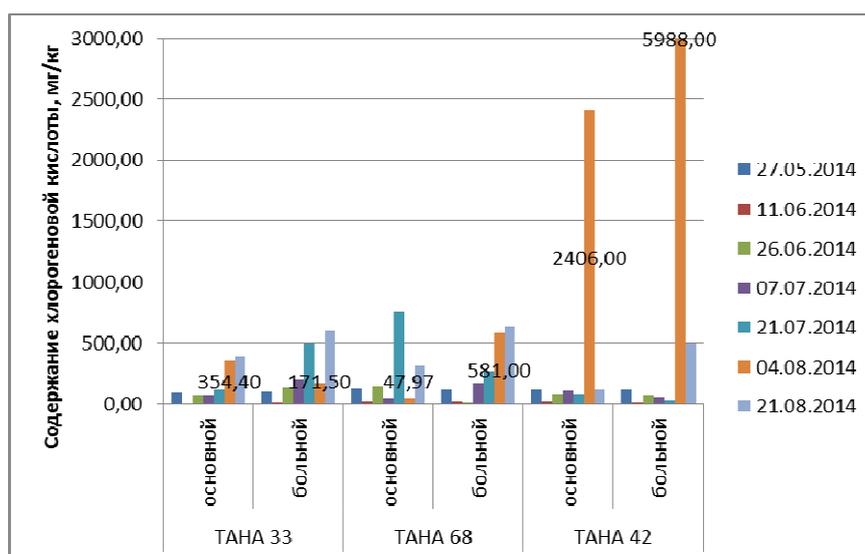


Рисунок 3 – Содержание хлорогеновой кислоты в листьях винограда

Динамика повреждаемости мембран листьев у всех изучаемых гибридных форм была одинаковой: коэффициент повреждения мембран снижался в первой-третьей декаде июня, возрастал в начале июля и значительно снижался в третьей декаде июля. Наибольшую стабильность мембран проявляли растения ТАНА 68 и ТАНА 33 (рис. 4).

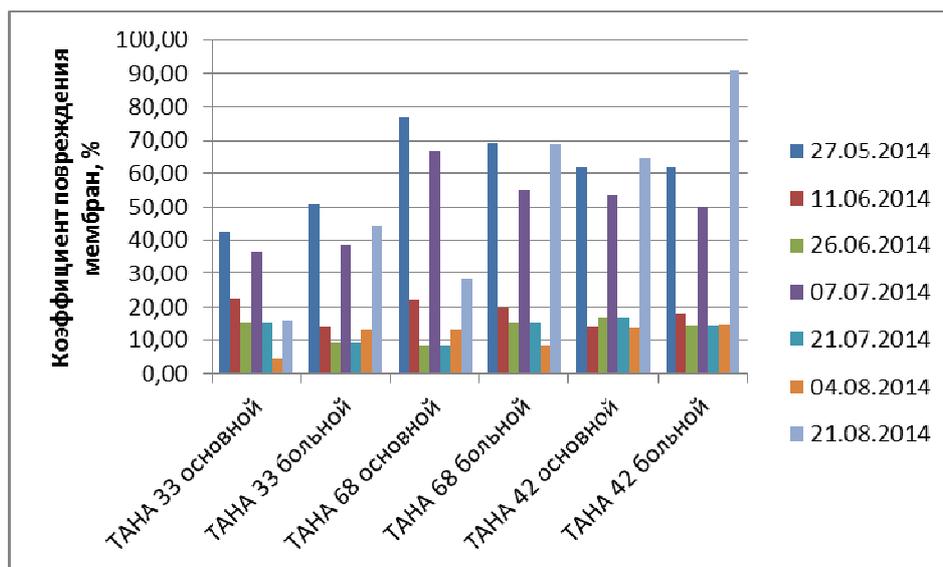


Рисунок 4 – Коэффициент повреждения мембран

Содержание хлорофиллов в листьях изучаемых форм винограда постепенно уменьшалось с первой декады июня, кроме формы ТАНА 33, у которой содержание зеленых пигментов в непораженных листьях возрастало до начала июля, а затем снижалось. С первой декады июля непораженные листья форм ТАНА 68 и ТАНА 42 содержали больше хлорофиллов, чем пораженные. В период максимальной интенсивности распространения грибных болезней (первая декада августа) больше пигментов содержалось в листьях неустойчивой формы ТАНА 33. У наиболее устойчивой формы ТАНА 42 содержание зеленых пигментов в пораженных и непораженных листьях в этот период отличалось незначительно (рис. 5).

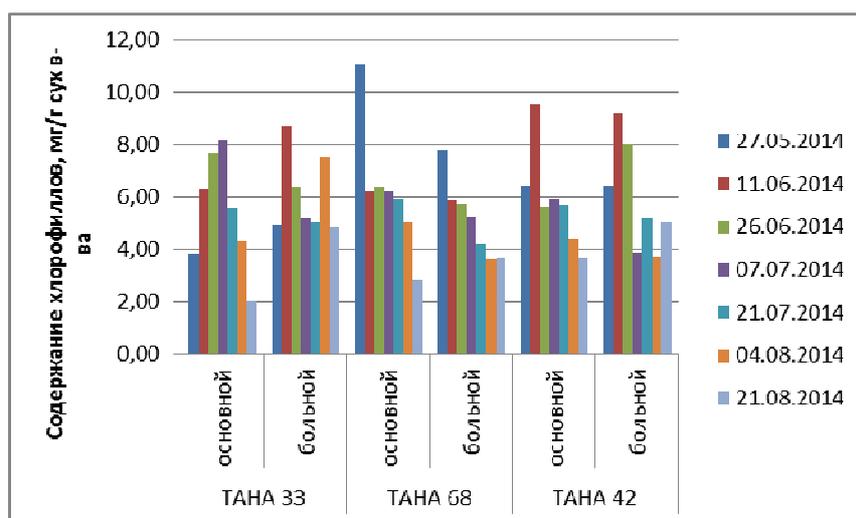


Рисунок 5 – Содержание хлорофиллов в листьях винограда

Эффективность первичных фотосинтетических процессов у растений винограда колебалась в течение вегетации (рис. 6)

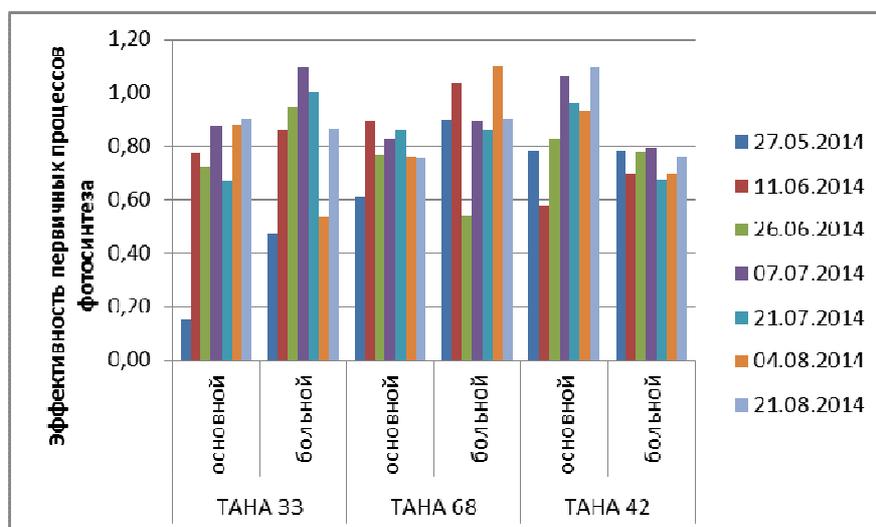


Рисунок 6 – Эффективность первичных процессов фотосинтеза винограда

С первой декады июля до третьей декады июля, когда наблюдается резкий скачок в интенсивности развития грибных патогенов на растениях винограда, у форм ТАНА 68 и ТАНА 33 проявляется увеличение эффективности первичных фотосинтетических процессов в пораженных листьях в сравнении с непораженными. В начале августа, когда отмечается

максимальная интенсивность развития патогенов на листьях винограда, у формы ТАНА 33 эффективность первичных фотосинтетических процессов в непораженных листьях становится значительно выше, чем в пораженных, у формы ТАНА 68 сохраняется описанная выше тенденция. У наиболее устойчивой формы ТАНА 42 с первой декады июля эффективность первичных фотосинтетических процессов снижается, данный показатель ниже в пораженных листьях. У этой формы показатель эффективности первичных процессов фотосинтеза в непораженных листьях во время максимального проявления биотического стресса превышает таковой у двух других форм (рис. 6).

В таблице 1 приведена зависимость интенсивности развития грибных болезней на листьях винограда изучаемых гибридных форм от накопления химических веществ, участвующих в иммунном ответе растений.

Таблица 1 – Зависимость интенсивности развития милдью на винограде от биохимических показателей (коэффициент корреляции)

Форма	Содержание лигнина		Содержание ресвератрола		Содержание хлорогеновой кислоты		Содержание аскорбиновой кислоты	
	Основные листья	Больные листья	Основные листья	Больные листья	Основные листья	Больные листья	Основные листья	Больные листья
Тана 33	0,12	0,49	0,84	0,51	0,88	0,68	0,58	0,64
Тана 68	0,23	0,65	0,49	0,46	0,45	0,86	0,39	0,55
Тана 42	-0,14	-0,41	0,31	0,84	0,45	0,47	0,81	0,57

Развитие милдью стимулировало накопление ресвератрола, хлорогеновой кислоты, аскорбиновой кислоты в листьях винограда.

Содержание лигнина в пораженных листьях форм ТАНА 33 и ТАНА 68 возрастало в процессе распространения милдью. У устойчивой формы ТАНА 42 отсутствовала корреляционная связь между развитием патогена и лигнификацией тканей листа.

При увеличении интенсивности развития милдью накопление ресвератрола у форм ТАНА 33 и ТАНА 68 в большей степени происходило в непораженных листьях, о чем свидетельствует более высокая степень корреляционной связи данных показателей в основных листьях, чем в больных. У устойчивой формы ТАНА 42 в ответ на поражение патогеном ресвератрол образовывался в больных листьях.

Связь между развитием милдью и накоплением хлорогеновой кислоты больше в пораженных листьях у формы ТАНА 68, у формы ТАНА 33 хлорогеновая кислота накапливалась в основных листьях. У растений устойчивой формы ТАНА 42 накопление хлорогеновой кислоты в ответ на развитие патогена происходило в равной степени в основных и больных листьях, однако, коэффициент корреляции имел средние значения.

Накопление аскорбиновой кислоты в листьях винограда при поражении милдью может свидетельствовать о процессах, нивелирующих накопление АФК в фазу индукции иммунного ответа растений. У форм ТАНА 33 и ТАНА 68 этот процесс больше связан с пораженными листьями, а у устойчивой формы ТАНА 42 – с основными листьями. Данное явление может быть причиной сохранения нормального функционирования листьев (высокая эффективность первичных процессов фотосинтеза, см. рис. б) и снижения распространения патогена по растению.

Форма ТАНА 33, отличающаяся низкой устойчивостью к грибным заболеваниям, характеризуется накоплением ресвератрола и хлорогеновой кислоты в непораженных листьях, что может свидетельствовать о слабом иммунном ответе в первичных очагах инфекции.

Среднеустойчивая форма ТАНА 68 отличается активным накоплением хлорогеновой кислоты и, соответственно, более высоким уровнем лигнификации в пораженных листьях, т.е. можно предположить

наличие активных структурных изменений клеточных стенок в ответ на развитие патогена.

У устойчивой формы ТАНА 42 в большей степени выражено накопление ресвератрола в пораженных листьях в процессе распространения милдью, что может говорить об активном локальном специфическом биохимическом ответе на биотический стресс.

Список литературы

1. Боровикова Н.А. Болезни виноградной лозы / Боровикова Н.А., Талаш А.И. // Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве // ВИЗР, Санкт-Петербург, 2009. - С. 332-333.
2. Гавриленко В.Ф. Большой практикум по физиологии растений /В.Ф. Гавриленко, М.Е. Ладыгина, Л.М. Хандобина/ — М: Высшая школа, 1975. – 392 с.
3. Кожушко Н. Н. Выход электролитов как критерий оценки засухоустойчивости и особенности его использования для зерновых // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. - Л.-д: Колос, 1976.— С. 32-43.
4. Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садо-водству. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ. – 2010. – 300 с.
5. Плотникова Л.Я. Иммуитет растений и селекция на устойчивость к болезням и вредителям / Под ред. Ю.Т. Дьякова. – М.: КолосС, 2007. – 359 с.
6. Рубин А.Б. Регуляция первичных стадий фотосинтеза при изменении физиологического состояния растений/ Рубин А.Б., Венедиктов П.С., Кренделева Т.Е., Пащенко В.В. //Фотосинтез и продукционный процесс. - М., 1988, с 29-39
7. Шкаликов В.А. Иммуитет растений / В.А. Шкаликов, Ю.Т. Дьяков, А.Н. Смирнов, Ф.С.-У. Джакилов и др. – М.: КолосС, 2005. – 190 с.
8. Langcake P. Disease resistance of *Vitis* spp. and the production of the stress metabolites resveratrol, ϵ -viniferin, α -viniferin and pterostilbene *Physiological Plant Pathology* Volume 18, Issue 2, 1981, Pages 213–226
9. Mattivi F. Profiling of Resveratrol Oligomers, Important Stress Metabolites, Accumulating in the Leaves of Hybrid *Vitisvinifera* (Merzling \times Teroldego) Genotypes Infected with *Plasmoparaviticola* / Mattivi F., Vrhovsek U., Malacarne G., Masuero D., et al. // *J. Agric. Food Chem.*, 2011, 59 (10), pp 5364–5375
10. Pezet R. δ -Viniferin, a Resveratrol Dehydrodimer: One of the Major Stilbenes Synthesized by Stressed Grapevine Leaves /Pezet R., Perret C., Bernard Jean-Denis J., Tabacchi R., et al. // *J Agric. Food Chem.*, 2003, 51 (18), pp 5488–5492

References

1. Borovikova N.A. Bolezni vinogradnoj lozy / Borovikova N.A., Talash A.I. // Metodicheskie ukazaniya po registracionnym ispytaniyam fungicidov v sel'skom hozjajstve // VIZR, Sankt-Peterburg, 2009. - S. 332-333.
2. Gavrilenko V.F. Bol'shoj praktikum po fiziologii rastenij /V.F. Gavrilenko, M.E. Ladygina, L.M. Handobina/ — M: Vysshaja shkola, 1975. – 392 s.

3. Kozhushko N. N. Vyhod jelektrolitov kak kriterij ocenki zasuhho-ustojchivosti i osobennosti ego ispol'zovanija dlja zernovyh // Metody ocenki ustojchivosti rastenij k neblagoprijatnym uslovijam sredy. - L.-d: Kolos, 1976.— S. 32-43.

4. Metodicheskoe i analiticheskoe obespechenie issledovanij po sado-vodstvu. – Krasnodar: GNU SKZNIISiV. – 2010. – 300 s.

5. Plotnikova L.Ja. Immunitet rastenij i selekcija na ustojchivost' k boleznjam i vrediteljam / Pod red. Ju.T. D'jakova. – M.: KolosS, 2007. – 359 s.

6. Rubin A.B. Reguljacija pervichnyh stadij fotosinteza pri izmenenii fiziologicheskogo sostojanija rastenij/ Rubin A.B., Venediktov P.S., Krendeleva T.E., Pashhenko V.V. //Fotosintez i produkcionnyj process. - M., 1988, s 29-39

7. Shkalikov V.A. Immunitet rastenij / V.A. Shkalikov, Ju.T. D'jakov, A.N. Smirnov, F.S.-U. Dzhililov i dr. – M.: KolosS, 2005. – 190 s.

8. Langcake P. Disease resistance of *Vitis* spp. and the production of the stress metabolites resveratrol, ϵ -viniferin, α -viniferin and pterostilbene *Physiological Plant Pathology* Volume 18, Issue 2, 1981, Pages 213–226

9. Mattivi F. Profiling of Resveratrol Oligomers, Important Stress Metabolites, Accumulating in the Leaves of Hybrid *Vitisvinifera* (Merzling \times Teroldego) Genotypes Infected with *Plasmoparaviticola* / Mattivi F., Vrhovsek U., Malacarne G., Masuero D., et al. // *J. Agric. Food Chem.*, 2011, 59 (10), pp 5364–5375

10. Pezet R. δ -Viniferin, a Resveratrol Dehydrodimer: One of the Major Stilbenes Synthesized by Stressed Grapevine Leaves /Pezet R., Perret C., Bernard Jean-Denis J., Tabacchi R., et al. // *J Agric. Food Chem.*, 2003, 51 (18), pp 5488–5492