

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

А. И. ГРЕЧУШНИКОВ

**ЗНАЧЕНИЕ ПЕРОКСИДАЗЫ В ИММУНИТЕТЕ К *PHYTOPHTHORA*
INFESTANS De Bary**

(Представлено академиком А. А. Рихтером 28 X 1939)

Поражение картофеля фитотфторой сопровождается появлением темных некрозов. Это явление было отмечено De Bary⁽¹⁾ и рядом других исследователей [O. Appel⁽²⁾]. Темные некрозы сопровождают заболевания, вызываемые и другими видами фитотфторы, например, *Phytophthora citrophthora* на плодах цитрусовых [M. Mac Zennan⁽³⁾], *Ph. megasperma* на плодах томата и картофеля⁽⁴⁾.

Темные некрозы являются первой ответной реакцией растения на заражение фитотфторой. В фитопатологической практике быстрота появления некроза и его величина служат показателем устойчивости растения; устойчивые растения при заражении дают явный и быстрый некроз, а на неустойчивых заметного темного некроза не наблюдается. С точки зрения биохимических реакций темный некроз представляет собой окислительную реакцию, сопровождающуюся окислением веществ, главным образом, ароматического ряда, до веществ темноокрашенных—меланинов. Реакция сопровождается глубоким изменением молекулы окисляемого вещества, чем исключается обратимость реакции. На возможность таких биохимических реакций указывают исследования Н. Raper'a⁽⁵⁾, O. Furth'a und H. Thallmayer'a⁽⁶⁾ по ферментативным окислениям тирозина. Окислительно-восстановительные процессы в нормальном картофеле осуществляются по Szent-Györgyi⁽⁷⁾ окислением-восстановлением двух ароматических соединений—пирокатехина и тирина. Активирование оксидаз или ослабление восстановительного процесса при заражении фитотфторой может привести к нарушению обратимости реакции и вызвать появление окрашенных веществ—продуктов окисления.

Значение оксидаз в проявлениях иммунитета растений отмечалось в работах А. А. Рихтера⁽⁸⁾, К. Т. Сухорукова⁽⁹⁾ и др. Карбоне и Арнаути⁽¹⁰⁾ приписывают оксидазам в растительных тканях защитную роль против инфекции.

Внешние признаки (темнение, некрозы) при заражении картофеля фитотфторой, проявляющиеся различно у восприимчивых и иммунных сортов, наталкивают на изучение окислительных ферментов в связи с сортом и состоянием восприимчивости. Нами в течение 1937 г. проводились исследования по состоянию окислительного фермента пероксидазы у восприимчивых и иммунных к фитотфторе сортов картофеля на фоне действия различных факторов.

Устойчивость сорта и активность пероксидазы в листьях. Активность ферментов зависит от условий выращивания и от стадии развития растения. В наших опытах растения выращивались в условиях вегетационного домика, т. е. при строго одинаковых условиях. Набор сортов и неоднократность взятия проб могли, до некоторой степени, компенсировать стадийные различия сортов. Пероксидаза определялась пирогаллольным методом, «центрифужным» [К. Т. Сухоруков, Э. Х. Гербер и др. (11)] и бензидиновым [К. Zirm (12)].

Одновременное испытание нескольких сортов всегда давало относительные, но сравнимые ряды цифр.

Перейдем к описанию опытов. Перед периодом наибольшей восприимчивости к фитофторе (29 VII) в листьях среднего яруса определена пероксидаза у трех сортов и одного вида картофеля, имеющих установленную характеристику фитофтороустойчивости: Ранняя Роза—весьма восприимчива, *Solanum Rybinii*—восприимчивый, Вольтман—средневосприимчивый и фитофтороустойчивый сорт № 8670.

Активность пероксидазы, выраженная в куб. сантиметрах 1/10 *N* перманганата на 1 г сырого веса листьев оказалась следующей: Ранняя Роза 14.6; *S. Rybinii* 13.7; Вольтман 19.0; фитофтороустойчивый № 8670 21.2.

Фитофтороустойчивый сорт № 8670 и средневосприимчивый—Вольтман показали высокую активность пероксидазы сравнительно с неустойчивыми—Ранней Розой и *S. Rybinii*.

Опыт повторен 16 IX с тремя сортами: фитофтороустойчивым № 8670, Ранней Розой и Смысловским (поражаемый). Метод определения пероксидазы—бензидиновый. Активность пероксидазы выражена в условных бензидиновых единицах на 1 г сырого веса листьев: Ранняя Роза 70.21; Смысловский 93.83; фитофтороустойчивый № 8670 112.81. Устойчивый сорт и в этом случае показал высокую активность пероксидазы.

Опыт повторен через три дня (19 IX) с двумя сортами: Смысловским и фитофтороустойчивым сортом № 8670: Смысловский 134.9; фитофтороустойчивый № 8670 183.1. Цифры значительно выше, чем в опыте 16 IX, но закономерность сохраняется.

Определение пероксидазы бензидиновым методом в клубнях в период покоя (1 XI 1937 г.) у трех различно устойчивых к фитофторе сортов картофеля дало следующие результаты: фитофтороустойчивый № 8670 3.54; Вольтман 3.01; Ранняя Роза 2.79.

Общая закономерность, отмеченная выше, сохраняется. Проводимые нами наблюдения по динамике пероксидазы в клубнях показывают, что активность пероксидазы в них ниже, чем в листьях, и меняется в течение зимнего хранения, повышаясь к моменту прорастания клубней (неопубликованные исследования).

Приведенные выше цифры (опыты 29 VII, 16 IX, 19 IX и 1 XI) указывают на связь фитофтороустойчивости сорта с активностью пероксидазы; выявляется защитная роль пероксидазы в листьях и клубнях картофеля при поражении фитофторой.

Влажность почвы и пероксидаза в листьях картофеля. В предыдущем сообщении автора (13) указывалось на зависимость между влажностью почвы и восприимчивостью картофеля к фитофторе.

Установив связь между активностью пероксидазы и фитофтороустойчивостью, автор решил проверить, в каком направлении изменяется пероксидаза при изменении увлажнения почвы. Опыт проведен вегетационно с сортами: фитофтороустойчивым № 8670 и Вольтман.

Определение пероксидазы сделано бензидиновым методом после цветения (19 IX). Полученные результаты приводятся в табл. 1.

Таблица 1

Наименование сорта	Влажность почвы в % от полной влагоемкости	Активность пероксидазы	
		В условных бензидиновых единицах на 1 г сырого веса листьев	В %
Вольтман	20	278.89	100
»	40	191.95	69.90
»	60	205.95	73.84
»	80	189.43	67.92
Фитофтороустойчивый № 8670	20	233.49	100
То же	40	185.93	79.63
» »	60	185.07	79.26
» »	80	187.53	58.90

При повышенной влажности почвы (80% от полной влагоемкости) активность пероксидазы падает до 67.92% у сорта Вольтман и до 58.90% у фитофтороустойчивого сорта № 8670.

Полученные данные подтверждают общераспространенное мнение о том, что эпидемии фитофторы способствует избыточная влажность. Мы должны сказать, что избыточная влажность благоприятствует развитию не только гриба, но вместе с этим и изменяет иммунное состояние растения-хозяина.

Клубни, полученные от растений, выращенных при различной влажности почвы, были 3 XI проанализированы (бензидиновым методом) на содержание пероксидазы. Полученные данные представлены в табл. 2.

Таблица 2

Наименование сорта	Влажность почвы в % от полной влагоемкости	Активность пероксидазы в условных бензидиновых единицах на 1 г сырого веса клубней
Фитофтороустойчивый № 8670	20	2.59
То же	40	3.47
» »	60	2.17
» »	80	2.05
Вольтман	20	2.63
»	40	2.74
»	60	2.65
»	80	2.54

Пероксидаза в клубнях менее зависит от влажности почвы, чем в листьях, оставаясь все время низкой.

Продолжительность дня и пероксидаза в картофеле. Под влиянием укороченного дня процесс клубнеобразования у картофеля ускоряется [Е. Успенский (14)]. Изменяется величина систоамилазы [А. Гречушников (13)] и восприимчивость картофеля к фитофторе, что было зарегистрировано в наблюдениях фитопатологов Института кар-

тофельного хозяйства [Яцынина⁽¹⁵⁾]; например, фитофтороустойчивый сорт № 8670, выращенный на 10-часовом дне, при искусственном заражении поразился фитофторой с явным плодоношением гриба. Имея в виду наметившуюся закономерность, что активность пероксидазы связана с устойчивостью сорта к фитофторе, мы провели определение активности пероксидазы в листьях различных сортов картофеля, выращенных на нормальном дне (под Москвой) и укороченном 8-часовом дне. Результаты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Дата анализа (1937г.)	Наименование сорта	Продолжительность дня	Активность пероксидазы в условных бензидиновых единицах на 1 г сырого веса листьев	В %
4 VIII	Фитофтороуст. № 8670	Нормальный день	86.29	100
	То же	Укороченный день (8 час.)	55.61	64.4
7 VIII	Ранняя Роза	Нормальный день	50.05	100
	» »	Укороченный день (8 час.)	46.56	91.9
11 IX	Вольтман	Нормальный день	129.0	100
	»	Укороченный день (8 час.)	67.0	51.9

При коротком дне (8 час.) активность пероксидазы снижается у всех анализированных сортов, но особенно резкое снижение пероксидазы до 51.9% наблюдается у позднеспелого сорта Вольтман.

Полученные данные заставляют предположить, что фотопериодическое воздействие на картофель является сильным фактором в сдвигах его иммунного состояния к фитофторе.

Показатели систоамилазы и пероксидазы у различных устойчивых сортов. В предыдущем сообщении о значении систоамилазы в иммунитете картофеля к фитофторе мы указывали на связь величины систоамилазы с устойчивостью сорта.

Из приведенных выше цифр следует, что устойчивые сорта и устойчивое состояние связано с высокими показателями пероксидазы. Сопоставим эти два показателя между собой у набора сортов, отличающихся по степени фитофтороустойчивости.

Сорта расположим по убывающему показателю систоамилазы. Определение систоамилазы и пероксидазы проведено одновременно 27 VIII 1937 г. и результаты сведены в табл. 4.

Необходимо сказать, что приведенные в табл. 4 как сорта № 18883, 19048, 17776, 12996 представляют собой гибриды, включенные на испытание только с 1936 г. Не исключается возможность, что их характеристика по фитофтороустойчивости будет несколько измененной. На выверенных в практике сортах, как фитофтороустойчивый № 8670, Вольтман, Эпикур, показатели систоамилазы и пероксидазы весьма отчетливо характеризуют их фитофтороустойчивость.

Устойчивые к фитофторе сорта картофеля дают при заражении темные некрозы и обладают более активной пероксидазой, чем неустойчивые сорта.

Таблица 4

Наименование сорта	Величина систоамилазы	Величина пероксидазы	Оценка фитофтороустойчивости
	В бензидиновых единицах		
Фитофтороустойчивый № 8670	5.80	124.72	Устойчивый
Вольтман	5.45	94.72	Среднеустойчивый
18883	5.20	74.10	Устойчивый
19048	5.20	94.27	Слабо заражается
17776	5.15	82.63	»
12993	4.85	85.45	»
Эпикур	4.15	79.68	Неустойчивый

При действии факторов, снижающих иммунитет картофеля к фитофторе (повышенная влажность, короткий день), активность пероксидазы падает. Сопоставление величин систоамилазы и пероксидазы у различных сортов дает параллельный ряд. Сорта с высокой систоамилазой (иммунные) показывают и высокую пероксидазу. При низкой систоамилазе (неиммунные сорта картофеля) наблюдается и низкая активность пероксидазы. По показателям систоамилазы и пероксидазы можно судить об иммунном состоянии картофельного растения к фитофторе при равных условиях выращивания.

Научно-исследовательский институт
картофельного хозяйства

Поступило /
31 X 1939

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. Де Вагу, О болезни картофеля, распространенной в настоящее время; о ее причинах и средствах к ее устранению, пер. А. Бекетова (1862). ² О. Аррей, Lafars Handb. der tech. Mykologie, вып. II (1905—1908). ³ М. Мас Зенпан, Proc. Roy. Soc., n. s., 2 (1936). ⁴ С. М. Томпкинс, С. М. Тучер и М. Гарднер, Journ. Agr. Res., p. 685 (1936). ⁵ Н. С. Рапер, Bioch. Journ., 21, p. 89 (1927). ⁶ О. Фурту и Н. Таллмайер, Enzymologia, III (1937). ⁷ Szent-Györgyi, Bioch. ZS., 162 (1925). ⁸ А. А. Рихтер, Маслособное и жировое дело, № 1 (1928). ⁹ К. Т. Сухоруков, Журн. опытной агрономии Юго-Востока, VIII, вып. 2 (1930). ¹⁰ Д. Карбоне и К. Арнауди, Иммунитет у растений (1937). ¹¹ К. Т. Сухоруков, Э. Гербер и др., Учен. зап. Саратов. ун-та, X, вып. 1 (1933). ¹² К. Зирм, Bioch. ZS., 245 (1932). ¹³ А. И. Гречушников, Сборник памяти акад. В. Н. Любименко, АН УССР (1938). ¹⁴ Е. М. Успенский, Картофель, Сельхозгиз (1937). ¹⁵ К. Яцынина, Отчет за 1935 г. (рукопись).