



УДК 632.981

Изменение ферментативной активности, устойчивости и продуктивности растений картофеля при термическом и химическом воздействии

А. И. Перфильева, Е. В. Рымарева, М. А. Живетьев

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск

E-mail: alla.light@mail.ru

Аннотация. Изучали воздействие предпосадочной термической и химической (монойодацетат, препараты «Максим» и «Синрам») обработки на активность амилазы, пероксидазы, содержание хлорофилла растений картофеля двух сортов, различных по устойчивости к возбудителю кольцевой гнили. Активность амилазы клубней зависела от силы термического воздействия, гипертермия 39 °С и 43 °С снижала её у обоих сортов. Активность пероксидазы в ответ на абиотический (температура) и биотический (патоген) стрессы увеличивалась только в листьях картофеля восприимчивого сорта. Гипертермия (45 °С) клубней перед заражением усиливала устойчивость и урожайность картофеля восприимчивого сорта в отличие от устойчивого. Предпосадочная химическая обработка препаратом «Максим» по сравнению с другими веществами обладала наибольшим эффектом по устойчивости и урожайности для обоих сортов.

Ключевые слова: тепловой шок, устойчивость, *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, клубни, картофель.

Введение

Несмотря на существенное возрастание знаний об общих механизмах устойчивости растений, по-прежнему остается открытым вопрос о их способности сопротивляться стрессовым воздействиям внешней среды. При этом жизненный потенциал растений в основном зависит от возможности реализовать защитно-приспособительные механизмы. Любой неспецифический стрессор оказывает на растительный организм прежде всего раздражающее действие, что вызывает формирование ответных защитных реакций, направленных на восстановление нормальных функций и структур. Поэтому, помимо специфических защитных реакций организмов, существует широкий набор неспецифических универсальных ответов растений на различные виды стресса. Такие реакции при длительном неблагоприятном воздействии индуцируют в растительном организме перестройку защитных систем [9; 17]. Наличие общих механизмов устойчивости позволяет растениям избегать огромных энергетических затрат, связанных с необходимостью формирования специализированных механизмов адаптации в ответ на любое отклонение условий обитания от нормальных [21].

Высокая температура является одним из основных экологических факторов, лимити-

рующих распространение культурных растений, в связи с интенсивным её влиянием на процессы метаболизма. Согласно молекулярно-генетической гипотезе Титова (1983 г.), при действии повышенных температур на растения включается механизм индуцированного синтеза белков: образуются новые мРНК, далее на полисомах синтезируются новые (стрессовые) белки, которые вызывают адаптивные изменения в клетках растения. Реализация ростовой и онтогенетических программ при этом тормозится [17]. Интерес представляет воздействие высокой температуры и на активность ферментов, осуществляющих важнейшие реакции, защищающие клетку от окислительного стресса (пероксидаза, каталаза), а также на синтез хлорофилла.

Исследования действия данных механизмов особо актуальны для культурных растений, имеющих серьёзное экономическое значение. Одной из наиболее широко возделываемых культур является картофель, современные безопасные технологии выращивания и хранения которого постоянно активно разрабатываются и внедряются [2; 14; 16].

Данное исследование является продолжением работ по поиску экологически безопасного метода по обеззараживанию клубней картофеля от возбудителей одного из самых распро-

страненных заболеваний – кольцевой гнили. Кольцевую гниль картофеля вызывает грамположительная бактерия *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Spieckermann et Kotthoff, 1914). Часто заражённые возбудителем клубни при сборе урожая и после хранения не отличаются от здоровых. При посадке больных клубней увеличивается вероятность гибели растений картофеля в период вегетации после цветения, что существенно отражается на урожайности. Существует множество методов и способов защиты растений от различного рода грибных заболеваний [8], в то же время методов эффективной борьбы с бактериальными заболеваниями до сих пор не существует.

Работа посвящена исследованию изменения ферментативной активности, устойчивости и продуктивности растений картофеля при термическом и химическом воздействии на клубни и растения с целью поиска новых способов иммунизации и стимуляции устойчивости растений применительно к выращиванию в поле. В наших предыдущих работах на объектах *in vitro* был показан стимулирующий эффект жёсткого теплового шока на растениях картофеля и ингибирующий эффект ингибитора гликолиза моноиодацетата, а также отдельно жёсткого теплового шока на возбудитель кольцевой гнили картофеля [3; 4].

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи: исследовать пероксидазную активность листьев картофеля и амилазную активность клубней; оценить влияние предпосадочной обработки клубней на показатели содержания хлорофилла и урожайности растений, выращенных в естественных и искусственных условиях.

Материалы и методы

В качестве объектов были использованы клубни картофеля и выращенные из них растения двух сортов: Луговской (устойчивый к возбудителю кольцевой гнили) и Лукьяновский (восприимчивый). В качестве химических агентов использовали: ингибитор дыхания моноиодацетат (МИА), препарат «Максим», кремнийсодержащий опытный препарат «Синрам» (любезно предоставлен А. С. Медведевой, Институт органической химии СО РАН, г. Иркутск). Основное внимание в работе было уделено влиянию МИА, поскольку его действие на возбудителя кольцевой гнили картофеля *in vitro* изучалось ранее [3; 4].

МИА является ингибитором процессов гликолиза, брожения и дыхания. В concentra-

ции 1 мМ МИА специфически необратимо ингибирует ферменты триозофосфатдегидрогеназу, дрожжевую алкогольдегидрогеназу и глицеральдегидфосфатдегидрогеназу. При повышении температуры (40 °С, через 2–3 ч) происходит его разложение на уксусную кислоту и йод, поэтому он практически безопасен для человека [6; 10; 13]. В работах ряда авторов МИА назван гликолитическим ядом. Он частично подавляет клеточное дыхание, что связано с наличием в клетках устойчивых к моноиодацетату потоков энергии: поток электронов по гексамонофосфатному пути при замкнутом цикле, поток по неполностью заблокированному гликолитическому пути, окисление в митохондриях субстратов не гликолитического типа [13]. В наших опытах также использовался 1 мМ водный раствор МИА.

Действующим веществом (д. в.) препарата «Максим» является флудиоксонил в концентрации 5 г/л. Это контактный фунгицид для защиты посадочного материала (луковицы, клубнелуковицы и др.) цветочных культур и семенного картофеля от болезней в период хранения и перед посадкой; на картофеле – один из лучших препаратов для обработки против любых видов парши и гнилей при хранении, а также ризоктониоза и фитофтороза (снижает поражение, индуцирует резистентность листьев) во время вегетации. 4 мл препарата разводили в 2 л воды, расход рабочей жидкости составил 2 л на 2 кг клубней, концентрация препарата в рабочей жидкости 20 мг/л. На единицу веса (1 кг) обрабатываемого картофеля соответственно приходилось 2 мл/кг препарата и 20 мг/кг действующего вещества.

Кремнийсодержащий опытный препарат «Синрам» (П) (3-триметилселил-N-фенилпропиламид) является новым химическим соединением и проявляет фунгицидную и нематоцидную активность в концентрациях по действующему веществу от 0,025 до 0,3 %.

Для изучения влияния термообработки на биохимические процессы в клубнях картофеля исследовали её воздействие на активность амилазы. Были выбраны следующие варианты термообработки: 26 °С, 37 °С, 39 °С, 43 °С, 45 °С, 50 °С. Выбор данных режимов обусловлен влиянием на физиологические программы растения: 26 °С – контроль; 37 °С и 39 °С – температуры теплового закаливания; 43 °С, 45 °С и 50 °С – температуры теплового повреждения [17]. Клубни картофеля восприимчивого (Лукьяновский) и устойчивого (Луговской) сортов обрабатывались при определенной тем-

пературе в течение 1 часа в термостате. Активность амилазы определялась по методике Смита – Роу [7].

Клубни подвергались обработке при следующих режимах: 26 °С; 37 °С; 45 °С; 26 °С + МИА; 37 °С + МИА; 45 °С + МИА, 26 °С + «Максим»; 37 °С + «Максим»; 45 °С + «Максим», 26 °С + П; 37 °С + П; 45 °С + П. Варианты с препаратом «Максим» использовались только в полевом эксперименте.

Клубни для обработки отбирались в мае. Термическую обработку клубней проводили в термостате при выбранной температуре в течение 1 часа. В вариантах опыта с включением МИА, «Максим» или П клубни после термообработки обрабатывались водным раствором препаратов (1мМ МИА; д. в. 0,3 % «Синрам»; «Максим») путём помещения их в раствор. Через 2 недели определяли влияние термической и химической обработки, наблюдая проклёвывание глазков и длину образовавшихся ростков.

Клубни картофеля для заражения отбирались дважды, в ноябре и феврале. Клубни заражались бактериальной суспензией двух вирулентных мукоидных штаммов *C. michiganensis*: CsR14 и As 1405 с титром 6×10^9 кл/мл. Бактерии выращивали на агаризованной и жидкой бактериальной среде в течение двух суток. Бактерии находились в логарифмической фазе роста [3].

Clavibacter michiganensis ssp. *sepedonicus* (*C. michiganensis*) – возбудитель кольцевой гнили картофеля – является карантинным объектом, включенным в список А2 Европейской организации по защите растений (ЕОЗР). Исследуемые бактерии – облигатные аэробы, нуждаются в богатых питательных средах, растут медленно. Они являются хемоорганотрофами и имеют метаболизм дыхательного типа с образованием небольшого количества кислоты из глюкозы и некоторых других углеводов. Оптимальная температура для роста – 20–29 °С; в редких случаях растут при температуре выше 35 °С [8; 11; 22].

Для изучения действия МИА на бактерии в период хранения производили инъекции в клубни, предварительно применяя следующие варианты обработки: 26 °С и 45 °С. Для инъекций использовали различные варианты: вода; раствор 1 мМ МИА; *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* штамм CsR14; раствор 1 мМ МИА + суспензия CsR14 в культуральной жидкости. Продольные срезы клубней контро-

лировали на световом микроскопе (Jenaval, Carl Zeiss Jena).

Зараженные и контрольные клубни высаживали в вегетационные сосуды и помещали в термостатируемые условия фитотрона. Для каждого варианта обработки брали по 10 клубней. Растения выращивали в условиях, максимально приближенных к естественным, пропалывали и поливали. В течение вегетации оценивали внешний вид растений и скорость их роста. Жизнеспособность растений определяли по содержанию хлорофилла в листьях в фазу цветения кустов. После окончания срока вегетации определяли массу клубней, выросших в сосудах.

Для полевого эксперимента обработанные клубни высаживали в почву на участке, расположенном на территории опытной станции института. Варианты режимов обработки каждого сорта были следующими: 26 °С, 37 °С, 45 °С, 26 °С + МИА, 37 °С + МИА, 45 °С + МИА, 26 °С + «Максим», 37 °С + «Максим», 45 °С + «Максим», 26 °С + МИА + «Максим», 37 °С + МИА + «Максим», 45 °С + МИА + «Максим», 26 °С + П, 37 °С + П, 45 °С + П, 26 °С + МИА + П, 37 °С + МИА + П, 45 °С + МИА + П. В период вегетации растения выращивали в естественных климатических условиях с периодической прополкой и окучиванием. Оценивали всхожесть семян и способность растений к цветению. Жизнеспособность растений определяли по содержанию хлорофилла и активности пероксидазы на двух фазах вегетации: бутонизация и цветение. Количественное определение хлорофиллов *a* и *b* (Хл *a* и *b*) проводили в 80%-ном ацетоновом экстракте. Содержание хлорофиллов определяли по общепринятой методике Гавриленко [5] при длинах волн 646 нм и 663 нм. Активность пероксидазы определялась согласно стандартной методике по Бояркину [1]. Продуктивность растений оценивали по массе ботвы и клубней в отдельности. Данные обработаны статистически с использованием приложения MS Excel.

Результаты и обсуждение

Интенсивность образования энергии, необходимой для процессов активации прорастания клубней картофеля, удобно оценивать по уровню активности содержащейся в них амилазы. Изменения показателей активности амилазы под влиянием разных режимов термообработки представлены на рис. 1.

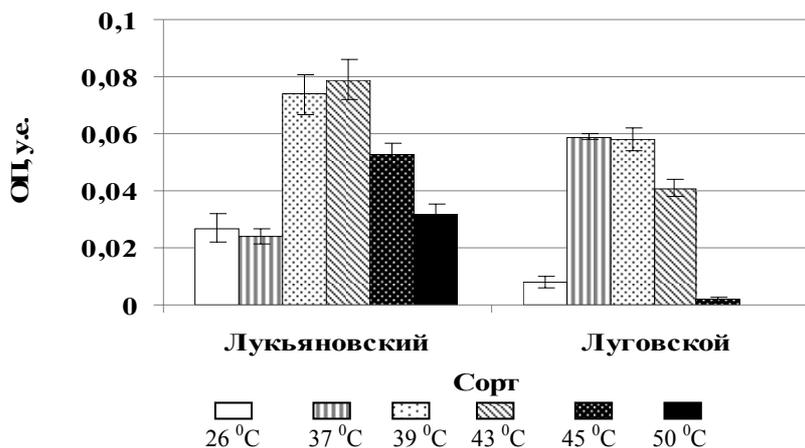


Рис. 1. Влияние температуры на активность амилазы клубней картофеля. ОП – оптическая плотность, определенная при длине волны 595 нм

Согласно результатам опытов, термообработка при 39 °C и 43 °C понижала активность фермента вне зависимости от сорта. Термообработка при 37 °C не влияла на показатель активности амилазы у восприимчивого сорта, у устойчивого же значительно снижала его. Обработка при температуре 45 °C понижала активность фермента в клубнях восприимчивого сорта и незначительно увеличивала в клубнях устойчивого. После обработки клубней при 50 °C активность амилазы у восприимчивого сорта практически не изменилась, в то время как у устойчивого сорта она была максимальной. Оптическая плотность свидетельствует об активности амилазы: чем выше оптическая плотность, тем ниже активность фермента (см. рис. 1).

На основании этих результатов и литературных данных по влиянию термообработки на растения [17; 20] для дальнейших экспериментов нами применялись следующие режимы термообработки: 26 °C – контроль; 37 °C – температура теплового закаливания; 45 °C – температура теплового повреждения. Варианты обработки 39 °C и 43 °C в дальнейших экспериментах были исключены. Обработка при 50 °C является чрезвычайно жестким тепловым шоком для картофеля и связана с высокими экономическими затратами.

Нами также установлено, что обработанные клубни, отобранные в мае, через 2 недели после часовой термической обработки внешне заметно не отличались от контрольных. Скорость прорастания и количество ростков у обоих сортов не зависели от режима обработки. Стимулирующее или угнетающее действие химической обработки также не выявлено. Возможно, угнетение активности амилазы, вызываемое термообработкой, не стимулирует прорастание ростков в клубнях.

Иную картину наблюдали при обработке клубней, отобранных в феврале. Непророщенные клубни картофеля обоих сортов после часовой термообработки спустя 2 недели внешне не отличались от клубней, не подвергнутых тепловому шоку. Однако термообработка замедляла проклевывание и развитие ростков на клубнях обоих сортов. Через 2 месяца после начала хранения отличия появившихся ростков зависели от сорта картофеля и режима обработки. Клубни сорта Луговской, обработанные при 45 °C, имели ростки примерно на треть короче, чем у необработанных, утолщенные и искривленные по сравнению с контрольными. Число ростков на клубнях сорта Лукьяновский, подвергнутых тепловому шоку, практически не отличалось от контрольных, в то же время наблюдалась некоторая стимуляция их роста и развития: ростки после обработки выглядели более мощными.

В экспериментах по заражению клубней были получены следующие результаты. Срезы контрольных клубней, инъецированных раствором МИА, отличались по сортам: у восприимчивого сорта в месте инъекции имела более темная полоса (у устойчивого сорта полоса светлая, толстая, с белым центром). На срезах контрольных клубней, инъецированных суспензией *S. michiganensis* и раствором МИА, признаки заболевания (размягчение паренхимы, неровные края бледно-коричневого цвета) вокруг точки введения заметнее проявились у устойчивого сорта. У восприимчивого сорта полоса в месте инъекции была шире, темно-коричневого цвета, без изменения состояния паренхимы. Таким образом, в этом случае не наблюдалось строгой связи между устойчивостью сорта картофеля к данному патогену и симптомами заражения [19].

Срезы инъектированных клубней обоих сортов картофеля, обработанных повышенной температурой (45 °С) после двух месяцев хранения внешне не отличались от контрольных. При заражении клубней *S. michiganensis* наблюдались следующие признаки: тёмно-коричневые, светлеющие к сердцевине полосы. На срезах клубней, инъектированных *S. michiganensis* + 1 мМ МИА явные признаки заражения наблюдались у восприимчивого сорта: более толстая полоса светло-коричневого цвета с белым центром. В то же время у устойчивого сорта наблюдалась другая реакция: полоса в месте инъекции толстая, с белым центром, тёмно-коричневыми краями, проявлений заболевания не наблюдалось. На основании полученных данных можно сделать вывод, что для обеззараживания устойчивого сорта большее значение имела комбинированная обработка температурой и ингибитором, в то время как у восприимчивого повышение температуры только усилило проявления симптомов заражения.

Таким образом, воздействие повышенной температуры приводило к замедлению развития и образования ростков на клубнях картофеля устойчивого сорта и стимулировало их рост у восприимчивого. При экспериментальном заражении применение МИА без термообработки ограничивало развитие симптомов заболевания только в клубнях восприимчивого сорта. Термообработка же в присутствии МИА уменьшала распространение *S. michiganensis* в зараженных клубнях картофеля устойчивого сорта в отличие от восприимчивого.

Поскольку картофель является растением-хозяином для исследуемого патогена, и инфекция протекает в скрытой форме, внешние признаки, отражающие симптомы заболевания, могут не проявиться даже в течение очень длительного времени. Поэтому достоверно влияние патогена возможно оценивать по изменению показателей метаболизма в тканях и органах растений.

В экспериментах по выращиванию картофеля в вегетационных сосудах получены следующие результаты (по данным за 2 года). В середине срока вегетации (47 дней) растения, выросшие из зараженных патогеном клубней, не обработанных и обработанных температурой, визуально не отличались от контрольных. Однако к окончанию вегетации (90 дней) стали явными симптомы заболевания (вилт, пожелтение листьев) у вариантов восприимчивого сорта, выросших из зараженных клубней без термообработки. Предпосадочная термообработка зараженных клубней картофеля восприимчивого сорта сдерживала проявление внешних признаков инфекции у растений, они не наблюдались независимо от срока вегетации. На растения картофеля устойчивого сорта предпосадочная обработка при 45 °С оказывала некоторое стимулирующее влияние, выражавшееся в высокой насыщенности цвета листьев и утолщении стеблей.

Жизнеспособность опытных растений определялась также путём сравнения содержания хлорофилла в листьях среднего яруса. У растений восприимчивого сорта содержание хлорофилла обоих типов увеличивалось после термообработки контрольных клубней, но не изменялось при заражении. У растений устойчивого сорта не наблюдалось повышения содержания хлорофилла при термообработке контрольных клубней, в то же время оно увеличивалось в растениях из клубней, зараженных патогеном (обработка при 45 °С + заражение суспензией *S. michiganensis*). Опираясь на данные по содержанию хлорофилла (табл. 1), можно предположить, что в клетках восприимчивого сорта при заражении большая часть энергии расходуется на активацию иммунных процессов, из-за чего существенно снижается образование хлорофилла, в то время как в контрольном варианте наблюдалось значительное увеличение его содержания.

Таблица 1

Влияние предпосадочной термообработки и заражения клубней картофеля на содержание хлорофилла (мг/100г сухого веса) в листьях растений, выросших из них

Вариант	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>
Лукьяновский 26 °С	46,8±7,4	27,8±9,5
Лукьяновский 45 °С	78,8±3,9	55,7±3,7
Лукьяновский 26 °С + <i>S. michiganensis</i>	22,4±5,5	15,1±8,16
Лукьяновский 45 °С + <i>S. michiganensis</i>	19,6±4,2	16,6±4,5
Луговской 26 °С	24,9±9,1	16,5±5,0
Луговской 45 °С	28,7±1,4	18,2±3,5
Луговской 26 °С + <i>S. michiganensis</i>	22,4±5,4	15,1±8,1
Луговской 45 °С + <i>S. michiganensis</i>	54,0±5,4	36,6±8,7

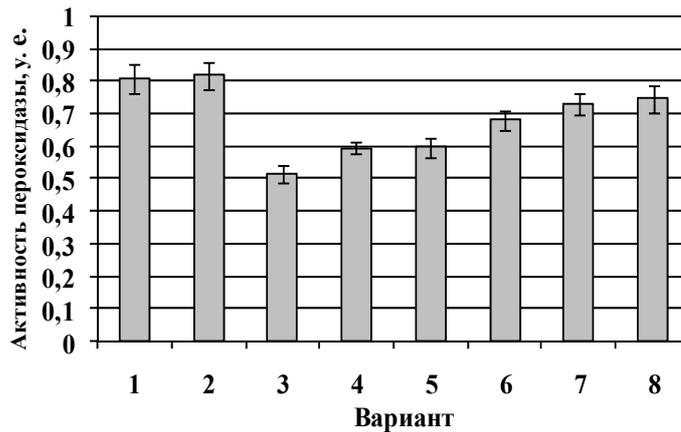


Рис. 2. Активность пероксидазы в листьях картофеля сортов Луговской и Лукьяновский, выращенных из клубней, предварительно обработанных при повышенных температурах и заражённых суспензией *S. michiganensis*. (1 – Луговской, 26 °С; 2 – Луговской, 26 °С + *S. michiganensis*; 3 – Луговской, 45 °С; 4 – Луговской, 45°С + *S. michiganensis*; 5 – Лукьяновский, 26 °С; 6 – Лукьяновский, 26 °С + *S. michiganensis*; 7 – Лукьяновский, 45 °С; 8 – Лукьяновский, 45 °С + *S. michiganensis*)

В листьях растений восприимчивого сорта картофеля, как не подвергавшихся предпосадочной температурной обработке (26 °С), так и обработанных при 45 °С, при заражении наблюдалась тенденция повышения уровня активности пероксидазы (рис. 2).

В листьях картофеля устойчивого сорта активность пероксидазы в контроле (26 °С) изначально регистрировалась выше, чем в листьях восприимчивого. Согласно литературным данным, при заражении активность пероксидазы суспензионной культуры клеток картофеля изменялась в зависимости от сорта [12]. В наших экспериментах при обработке при 45 °С уровень содержания пероксидазы в листьях контрольных растений устойчивого сорта резко понижался, в то время как у восприимчивого – возрастал. Активность пероксидазы в листьях картофеля устойчивого сорта, выращенных из искусственно заражённых клубней, либо не изменялась после обработки при 26 °С, либо уменьшалась при 45 °С. У растений восприимчивого сорта при обоих режимах активность пероксидазы увеличивалась после заражения клубней. Обнаруженные данные подтверждали устойчивость сорта картофеля к исследуемому возбудителю болезни. Активность пероксидазы в листьях в ответ на стресс увеличивалась только у растений восприимчивого сорта, в листьях растений устойчивого сорта изменение активности не происходило.

После окончания срока вегетации определяли массу клубней картофеля для каждого варианта обработки. Было выявлено, что у восприимчивого сорта (Лукьяновский) наибо-

лее урожайным был вариант 45 °С + *S. Michiganensis* и 45 °С, а у устойчивого (Луговской) наибольший урожай был в варианте 26 °С. Таким образом, растения восприимчивого сорта оказались более чувствительными к внешним факторам, в отличие от растений устойчивого сорта. Термообработка перед заражением клубней усиливала устойчивость восприимчивого сорта, не уменьшая его урожайность. У устойчивого сорта термообработка понижала урожайность.

Для того чтобы оценить влияние предпосадочной термической и химической обработки на вегетацию и урожайность растений картофеля в естественных условиях в течение двух лет был проведён полевой эксперимент. Нами проанализированы всхожесть и продуктивность опытных растений картофеля. Наибольшие изменения наблюдали при обработке температурой, МИА и «Максимом». Препарат «Синрам» не оказывал никакого влияния на всхожесть клубней и вегетацию картофеля.

Предпосадочная обработка при 37 °С снижала всхожесть картофеля устойчивого сорта приблизительно в 5 раз. В то же время комбинированная обработка МИА + 37 °С улучшала всхожесть картофеля до 100 %, при сочетании МИА и 26 °С/45 °С снижала на 50–75 % (т. е. в 2 и в 4 раза). Обработка температурой и препаратом «Максим» стимулировала всхожесть при любой термообработке, а с МИА и препаратом «Максим» от 2 до 10 раз снижала всхожесть. Таким образом, обработка препаратом «Максим» эффективнее увеличивала всхожесть по сравнению с обработкой МИА.

Восприимчивый сорт более выразительно реагировал на все виды термообработки. Влияние температуры 37 °С проявлялось в незначительном уменьшении всхожести (на 10 %). Комбинированная обработка МИА + температура сильнее угнетала всхожесть у восприимчивого сорта, чем у устойчивого. Препарат «Максим» стимулировал всхожесть у обоих сортов, а МИА понижал данный параметр во всех вариантах. Комбинированная обработка (температура, МИА и Максим) угнетала всхожесть от 2,4 до 4-х раз. Термообработка разными вариантами на всхожесть этих клубней влияла эффективней, чем на клубни устойчивого сорта, так как восприимчивый сорт более уязвим при обработке температурой. Комбинированная обработка температурой и «Максимом» у обоих сортов увеличивала всхожесть.

Для исследования активности пероксидазы использовали листья картофеля, взятые с поля из вариантов: Луговской, 26 °С, цветущий; Луговской, 26 °С, не цветущий; Луговской, 45 °С, цветущий; Луговской, 45 °С, не цветущий; Луговской, 26 °С + МИА; Луговской, 45 °С + МИА; Луговской, 37 °С + МИА; Лукьяновский, 26 °С, цветущий; Лукьяновский, 26 °С, не цветущий; Лукьяновский, 45 °С, цветущий; Лукьяновский, 45 °С, не цветущий; Лукьяновский, 26 °С + МИА; Лукьяновский, 45 °С + МИА; Лукьяновский, 37 °С + МИА.

Активность пероксидазы у не цветущих растений в варианте 26 °С + МИА у обоих сортов картофеля оказалась выше, чем в вариантах с предпосадочной комбинированной обработкой при 37 °С и 45 °С. Термообработка понижала активность пероксидазы картофеля у обоих сортов (рис. 3). В присутствии МИА при

контрольной температуре (26 °С) активность пероксидазы повышалась у обоих сортов, таким образом, влияние температуры и МИА по-разному изменяли активность пероксидазы (рис. 4). Увеличение активности пероксидазы с помощью МИА может способствовать повышению устойчивости растения и активации неспецифических реакций иммунитета.

Согласно полученным данным (табл. 2), содержание хлорофилла у устойчивого сорта между максимальной и минимальной точкой в фазу цветения отличалось приблизительно в 6 раз, в фазу бутонизации – в 1,5 раза. По нашему мнению, устойчивость сорта картофеля к возбудителю кольцевой гнили в фазу цветения могла быть обусловлена более высоким уровнем жизнеспособности растения, которая напрямую коррелировала с более высоким содержанием хлорофилла.

При обработке в варианте 37 °С + МИА у восприимчивого сорта не наблюдалось цветения. В листьях растений картофеля, выращенных из клубней, которые обрабатывались в вариантах: Лукьяновский, 26 °С + МИА; Лукьяновский, 45 °С + «Максим»; Лукьяновский, 37 °С + МИА + «Максим» наблюдалось повышение содержания хлорофилла в фазу бутонизации по сравнению с контрольными. Таким образом, восприимчивый сорт оказался наиболее чувствительным к абиотическим факторам. В фазу цветения у восприимчивого сорта наблюдали снижение содержания хлорофилла во всех вариантах обработки по сравнению с контролем (при 26 °С), кроме варианта 26 °С + МИА + «Максим». Термообработка понижала содержание хлорофилла как в фазу бутонизации, так и в фазу цветения.

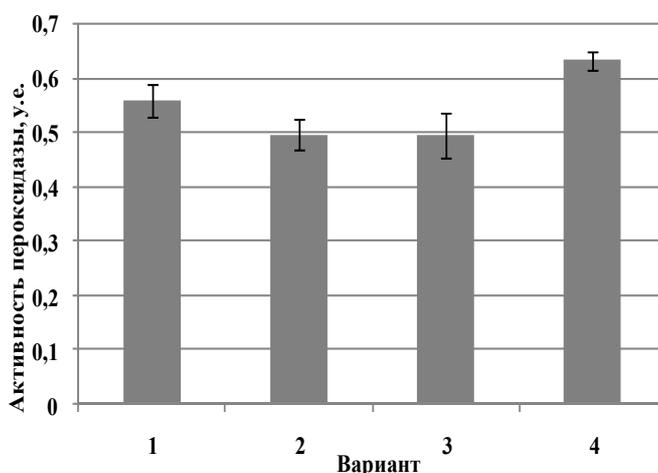


Рис. 3. Активность пероксидазы в листьях картофеля сортов Луговской и Лукьяновский, выращенных из клубней, предварительно обработанных температурой: (1 – Луговской, 26 °С; 2 – Луговской, 45 °С; 3 – Лукьяновский, 26 °С; 4 – Лукьяновский, 45 °С)

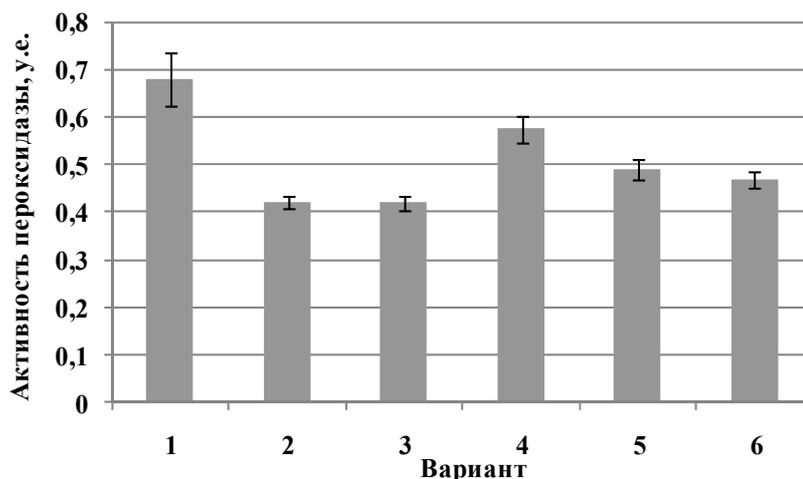


Рис. 4. Активность пероксидазы в листьях картофеля сортов Луговской и Лукьяновский, выращенных из клубней, предварительно обработанных температурой и МИА: 1 – Луговской, 26 °С + МИА; 2 – Луговской, 37 °С + МИА; 3 – Луговской, 45 °С + МИА; 4 – Лукьяновский, 26 °С + МИА; 5 – Лукьяновский, 37 °С + МИА; 6 – Лукьяновский, 45 °С + МИА

Таблица 2

Влияние предпосадочной термообработки клубней картофеля на содержание хлорофилла в листьях кустов, выросших из них (мг/100 г сырого веса)

Вариант обработки	Хлорофилл <i>a</i>		Хлорофилл <i>b</i>	
	бутонизация	цветение	бутонизация	цветение
Лукьяновский, 26 °С	126,4±16,9	191,3±71,3	175,0±24,2	258,4±87,1
Лукьяновский, 37 °С	93,6±29,2	99,3±39,6	141,4±44,9	124,4±48,5
Лукьяновский, 45 °С	88,2±29,2	147,8±59,1	129,1±40,7	205,0±83,7
Луговской, 26 °С	94,7±32,4	111,3±40,6	156,5±57,6	148,3±53,4
Луговской, 37 °С	130,6±25,3	99,2±34,5	178,4±42,1	135,2±48,0
Луговской, 45 °С	108,5±26,9	148,2±57,0	150,1±36,1	222,0±98,4
Лукьяновский, 26 °С +МИА	187,9 ±53,2	179,7±111,8	295,1±90,0	201,1±116,3
Лукьяновский, 37 °С +МИА	108,1±34,7	0,0	170,7±70,5	0,0
Лукьяновский, 45 °С +МИА	99,0±40,7	144,6±35,0	146,7±58,6	224,2±64,8
Луговской, 26 °С +МИА	103,3±19,6	282,1±57,5	150,6±30,4	400,5±115,8
Луговской, 37 °С +МИА	102,0±48,3	138,7±80,4	153,9±70,0	191,0±108,9
Луговской, 45 °С +МИА	116,4±20,1	128,5±35,9	173,3±24,5	146,9±99,6
Лукьяновский, 26 °С + «Максим»	116,9±30,1	119,5±16,2	152,0±39,7	161,7±23,9
Лукьяновский, 37 °С + «Максим»	108,1±41,5	171,1±63,7	148,7±60,8	253,8±80,3
Лукьяновский, 45 °С + «Максим»	132,7±48,0	176,7±50,7	208,7±84,2	254,3±85,8
Луговской, 26 °С + «Максим»	127,1±19,4	107,3±24,9	173,3±29,4	141,5±32,9
Луговской, 37 °С + «Максим»	92,3±10,9	110,7±15,0	130,3±15,0	157,9±26,8
Луговской, 45 °С + «Максим»	98,1±24,3	271,0±87,1	143,1±36,0	438,8±167,9
Лукьяновский, 26 °С +МИА+ «Максим»	108,0±39,1	335,8±66,9	159,7±61,2	451,8±93,4
Лукьяновский, 37 °С +МИА+ «Максим»	129,8±47,7	136,3±48,9	197,9±83,0	188,1±66,2
Лукьяновский, 45 °С +МИА+ «Максим»	103,8±52,3	106,6±28,6	163,0±88,4	147,7±39,0
Луговской, 26 °С +МИА+ «Максим»	103,0±38,2	85,3±26,7	139,9±58,2	125,4±36,4
Луговской, 37 °С +МИА+ «Максим»	92,0±25,6	512,5±31,3	127,1±33,6	679,4±31,3
Луговской, 45 °С +МИА+ «Максим»	138,5±27,6	168,9±57,1	235,8±50,8	228,6±82,8

Биомасса надземной части растений у всех вариантов не превышала 200 г на куст. Увеличение биомассы клубней наблюдалось во всех вариантах с применением препарата «Максим». Термообработка с использованием МИА угнетала клубнеобразование больше, чем только температурная обработка. Комбинированная обработка МИА + «Максим» при повышенной температуре вызывала увеличение клубнеобразования. Таким образом, для стимуляции клубнеобразования можно применять либо температурную обработку при данном режиме (45 °С), либо обработку препаратом «Максим». Данные, представленные на рис. 5, доказывают, что комбинированное воздействие в режиме 45 °С + МИА существенно понижало как биомассу надземной части устойчивого сорта, так и урожайность клубней, т. е. такая обработка не может быть рекомендована для применения на практике.

Наибольшая урожайность в оба года наблюдалась в вариантах 26 °С + МИА и 37 °С + МИА (см. рис. 5). Остальные варианты обработки дали неоднозначные результаты, что в значительной степени определялось климатическими условиями.

Биомасса надземной части восприимчивого сорта была меньше во всех вариантах по сравнению с устойчивым (рис. 6). Увеличение биомассы клубней отмечалось в вариантах Лукьяновский, 26 °С + «Максим»; Лукьяновский, 37 °С; Лукьяновский, 45 °С + МИА, что свидетельствует об эффективности применения препарата «Максим» при контрольной температуре (26 °С), термообработке при 37 °С и комбинированной термообработке при 45 °С с добавлением МИА. Таким образом, растения восприимчивого сорта выразительно реагировали на обработку препаратом «Максим» даже без обработки повышенной температурой.

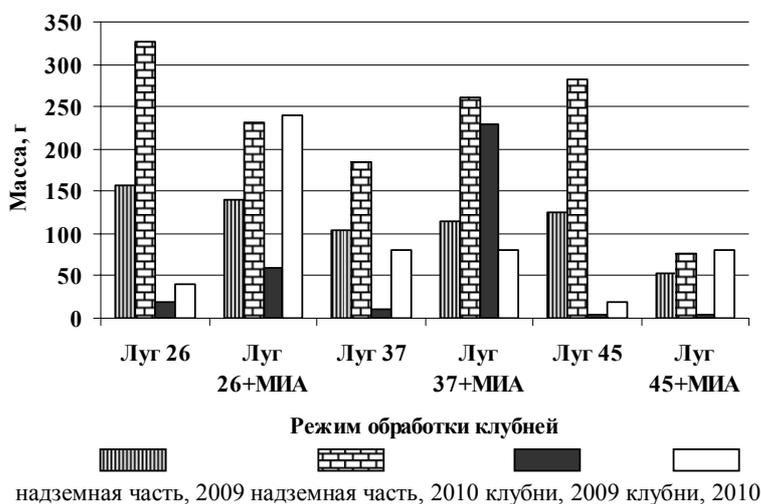


Рис. 5. Биомасса надземной части и клубней картофеля сорта Луговской, выращенных из клубней, обработанных в различных режимах (по данным за 2 года)

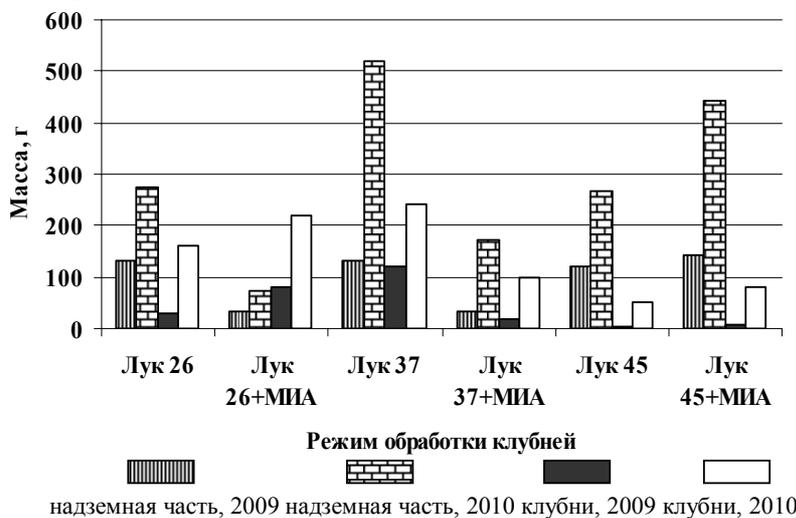


Рис. 6. Биомасса надземной части и клубней картофеля сорта Лукьяновский (по данным за 2 года)

Для восприимчивого сорта, в отличие от устойчивого, наиболее урожайным являлся вариант предварительной обработки клубней при 37 °С, в этом же варианте наблюдались максимальные показатели массы надземной части и клубней. Таким образом, для повышения урожайности данного сорта рекомендуется предпосадочная термообработка клубней длительностью в 1 час при 37 °С.

Заключение

Проведённые исследования показали, что предпосадочная термообработка клубней изменяет течение биохимических процессов в их тканях, влияя на способность и скорость образования ростков и их морфологию. Предпосадочная термообработка зараженных клубней обоих изучавшихся сортов оказывала стимулирующее влияние на жизненные функции растений. Так, у растений восприимчивого сорта она сдерживала проявление признаков инфекции, усиливая иммунный статус, а у растений устойчивого сорта повышала жизнеспособность. Предпосадочная химическая обработка с использованием препарата «Максим» самостоятельно, и в комбинации с термообработкой демонстрировала наибольший эффект роста устойчивости и урожайности для обоих сортов. В наших экспериментах выявлено, что препарат «Синрам» не влияет на ход морфологических изменений и биохимических процессов в тканях изучаемых растений. Влияние моноацетата было неоднозначным, зависело от устойчивости сорта картофеля и комбинаций режимов обработки. Предпосадочная термообработка (45 °С, 1 ч) зараженных клубней картофеля восприимчивого сорта сдерживала проявление внешних признаков инфекции у растений, они не наблюдались независимо от срока вегетации. Эти данные подтверждают результаты [4], полученные в опытах по ингибированию роста бактерий *in vitro* при заданном режиме воздействия.

Литература

1. Бояркин А. Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы / А. Н. Бояркин // Биохимия. – 1951. – Т. 16, вып. 4. – С. 352–357.
2. Верещагин А. Л. Применение стимуляторов роста в сверхмалых (гомеопатических) дозах в сельском хозяйстве / А. Л. Верещагин, В. В. Кропоткина // Производные хитозана и стимуляторы роста в сельском хозяйстве : материалы 4-й межрегион. науч.-практ. конф. 21 марта 2006 г. – Бийск, 2006. – С. 41–49.
3. Влияние моноацетата на термотолерантность возбудителя кольцевой гнили картофеля / А. И. Перфильева [и др.] // Устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды : материалы Всерос. науч. конф. – Иркутск, 2007. – С. 236–239.
4. Влияние моноацетата на термотолерантность *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Е. В. Рымарева [и др.] // J. of Stress Physiology & Biochemistry. – 2008. – Vol. 4, N 2. – P. 4–13.
5. Гавриленко В. Ф. Большой практикум по фотосинтезу / В. Ф. Гавриленко, Т. В. Жигалова. – М. : Академия, 2003. – 241 с.
6. Диксон М. Ферменты / М. Диксон, Э. Уэбб. – М. : Мир, 1982. – Т. 2. – С. 669–806.
7. Досон Р. Справочник биохимика / Р. Досон. – М. : Мир, 1991. – 540 с.
8. Иванюк В. Г. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков / В. Г. Иванюк, С. А. Банадыев, Г. К. Журомский. – Минск : Белпринт, 2005. – 696 с.
9. Индуцирование системной устойчивости у растений биогенными индукторами / А. П. Дмитриев [и др.] // Вест. Харьковского аграрного ун-та. – 2005. – Т. 1(6). – С. 19–27.
10. Мьзина С. Д. Биологическая химия / С. Д. Мьзина, Д. Г. Кнорре. – М. : Высш. шк., 1998. – 576 с.
11. Определитель бактерий Берджи / ред. Дж. Хоулт [и др.]. – М. : Мир. – 1997. – Т. 2. – 800 с.
12. Роль слабосвязанных с клеточной стенкой пероксидаз в устойчивости картофеля при инфицировании кольцевой гнилью / И. А. Граскова [и др.] // ДАН. – 2008. – Т. 423, № 3. – С. 414–416.
13. Рэймэрс Ф. Э. Формирование метаболических систем в растущих клетках растений / Ф. Э. Рэймерс, Э. Е. Хавкин. – Новосибирск : Наука, 1977. – 220 с.
14. Трансформация пестицидов в картофеле / А. П. Кривошеева [и др.] // «Биология наука XXI века : сб. тез. 7-й Пушин. шк.-конф. мол. учён. – 2003. – С. 181.
15. Уэбб Э. Ингибиторы ферментов и метаболизма / Э. Уэбб. – М. : Мир, 1966. – 427 с.
16. Цой Т. Л. Влияние сверхмалых доз комплексонов ЭДТА с переходными металлами на урожайность, качество и хранение картофеля / Т. Л. Цой // Ползунов. вестн. – Барнаул, 2006. – № 2–1. – С. 323–326.
17. Шакирова Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция / Ф. М. Шакирова. – Уфа : Гилем, 2001. – 160 с.
18. Cao H. Common mechanisms for pathogens of plants and animals / H. Cao, R. I. Baldini, L.G. Rahme // Annu. Rev. Phytopathol. – 2001. – Vol. 39. – P. 259–284.
19. Complexity of the heat stress response in plants / S. Kotak [et al.] // Curr. Opin. Plant Biol. – 2007. – Vol. 10, N 3. – P. 310–316.
20. Swindell W. R. The association among gene expression responses to nine abiotic stress treatments in

Arabidopsis thaliana / W. R. Swindell // Genetics. – 2006. – Vol. 8. – P. 128–132.

21. Webb E. C. Enzyme and metabolic inhibitors / E. C. Webb. – N. Y., 1963. – Vol. 1. – 236 p.

22. Westra A. G. Isolation and characterization of extracellular polysaccharide of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* / A. G. Westra, S. A. Slack // Phytopathology. – 1992. – Vol. 82. – P. 1193–1199.

Thermal and chemical treatment impact on tubers and plants of potato

A. I. Perfilyeva, E. V. Rymareva, M. A. Zhivetyev

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk

Abstract. Influence of prelanding thermal and chemical processing (inhibitor mono-iodine-acetate, a preparation of «Maxim», a preparation of "Sinram") on tubers and plants of a potato in vegetation is studied. It is shown that influence of temperature and chemical processing on ability to life tubers was observed only at long experiment in some months. Heat treatment slowed down the sprouting and development of sprouts on tubers of steady and susceptible grades. The appeared sprouts differed depending on a potato grade and processing regime. Prelanding heat treatment of tubers of a potato of a susceptible grade before infection constrained display of external signs of an infection at plants. On plants of a potato of a steady grade prelanding heat treatment 45 °C had some stimulating influence which was expressed in intensity of colouring of leaves and a thickening of stalks.

Key words: Thermal and chemical treatment, stability, *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, tubers and plants of potato.

Перфильева Алла Иннокентьевна
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН
664033 г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
аспирант
тел. (3952) 42–50–09
E-mail: alla.light@mail.ru

Perfilyeva Alla Innokentyevna
Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry
SB RAS
132 Lermontov St., Irkutsk, 664033
doctoral student
phone: (3952) 42–50–09
E-mail: alla.light@mail.ru

Рымарева Елена Владимировна
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН
664033 г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
кандидат биологических наук,
научный сотрудник
тел. (3952) 42–50–09
E-mail: elenar@sifibr.irk.ru

Rymareva Elena Wladimirovna
Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry
SB RAS
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033
Ph. D. in Biology, research scientist
phone: (3952) 42–50–09
E-mail: elenar@sifibr.irk.ru

Живетьев Максим Аркадьевич
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН
664033 г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
ведущий инженер
тел. (3952) 42–50–09
E-mail: nik.19@irk.ru

Zhivetyev Maxim Arkadievich
Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry
SB RAS
132 Lermontov St., Irkutsk, 664033
leading engineer
phone: (3952) 42–50–09
E-mail: nik.19@irk.ru