

УДК 634.11:631

ДИАГНОСТИКА ПОВРЕЖДЕНИЙ РАСТЕНИЙ ЯБЛОНИ НА РАННИХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ РЕАКЦИИ

Е.М. Цуканова, Е.Н. Ткачев, Всероссийский НИИ садоводства им. Н.В. Мичурина

Предотвратить или значительно ослабить негативный эффект повреждающих факторов возможно путем правильного подбора места закладки насаждений с учетом биологических особенностей культуры и применения дифференцированной сортовой агротехники. Использование специальных агроприемов, таких как регулирование нагрузки урожаем, высокотехнологичная формировка кроны, сбалансированное применение удобрений, своевременные и эффективные защитные мероприятия, способствует оптимизации энергетического баланса растения и, как следствие, повышает его адаптотенциал [Kaiser, 1979; Schmitz, 1996; Гудковский и др. 2001].

В настоящее время в мире ведутся активные исследования по проблеме фитоиммунокоррекции [Озерцовская 1999, 2003; Ковалев, Янина, 1999; Гудковский, 1999; Озерцовская, Ильинская, Васюкова, 1999, 2002; Гудковский и др., 2001, 2002, 2003], представляющей возможность повысить адаптивный потенциал растения и активизировать работу его защитных механизмов.

Прежде чем каким-либо способом воздействовать на растение с целью повышения его неспецифической устойчивости, необходимо иметь точное представление о физиологическом состоянии растительного организма в момент воздействия, ориентироваться в направленности физиологических процессов, происходящих в нем, и на основании этого определять необходимость, вид и способ помощи растению.

Следовательно, на первый план выходит проблема диагностики физиологического состояния растений, поиск методов, позволяющих на ранних этапах определять степень воздействия вредного фактора и прогнозировать его развитие.

Воздействие на растения различных стрессоров (механическое повреждение, негативные факторы внешней среды, техногенные загрязнения, грибные и вирусные болезни и др.) приводит к изменению многих физиологических показателей. Известно, что ферментная система растения — не просто биокаталитический, но и чрезвычайно чувствительный механизм, направляющий весь ход его метаболизма. Активность ферментов в зависимости от условий существования целостного организма может в определенной степени отражать состояние обмена веществ, а следовательно, и состояние организма в целом. Каталаза является косвенным поставщиком молекулярного кислорода для химических реакций и обеспечивает окислительные процессы в клетках. Под ее влиянием происходит накопление альфакетокислот (пировиноградной и альфакетоглутаровой), что ведет к повышению интенсивности биосинтеза аминокислот. Помимо этого, каталаза препятствует разложению пероксида водорода на свободные радикалы. Не менее значимыми в защитной системе являются пероксидазы, действие которых направлено на связывание любых свободных молекул активного кислорода в клетках [Козн, 1986; Хочачка, Сомеро, 1988; Фридрих, 1989; Flower Tech, 2003]. Поэтому индукция и репрессия ферментативной активности представляет значительный интерес для использования в качестве диагностического показателя степени повреждения растительного организма, характеризуя антиокислительный потенциал растения.

В последние годы широкое распространение получили люминесцентные методы экспресс-оценки физиоло-

гического состояния растений, в частности, измерение индукции переменной флуоресценции хлорофилла а ассимиляционных тканей (Fv/Fm), которая позволяет быстро оценить активность работы фотосистемы-2 [Мерзляк, 1994; Шестаков, 1998; Погосян, 1999; 2003]. Корректность использования методов определения интенсивности работы фотосинтетического аппарата для характеристики физиологического состояния растения подтверждается, в частности, тем, что фотосинтез является одним из наиболее уязвимых процессов для окислительного повреждения. Это связано с повышенной локальной концентрацией кислорода; высокой степенью ненасыщенности жирных кислот в составе липидов фотосинтетических мембран; лабильностью белковых комплексов и возможностью прямого фотодинамического ответа на поглощение света хлорофиллом. Сложная система регуляции первичных процессов фотосинтеза, поддерживающая баланс между возбужденными состояниями пигментов, градиентами концентраций ионов на фотосинтетической мембране и степенью восстановленности молекул-переносчиков в системе электронного транспорта, защищающая фотосинтетический аппарат от повреждения, лабильна. Она легко нарушается при воздействии стрессоров [Рубин, 1995; Погосян, 2004].

Достаточно информативным является значение дисперсии показателя фотоиндуцированного послесвечения, позволяющего выявить степень разбалансированности состояния растения и соответственно определить направленность изменения его физиологического статуса [Цуканова, 2002]. Исследования на крыжовнике, вишне, сливе, яблоне показали, что высокий уровень дисперсии кривой флуоресценции позволяет за 2 нед. до фенотипического проявления прогнозировать предстоящее ухудшение состояния растений даже в тех случаях, когда остальные показатели (Fv/Fm, активность каталазы и пероксидазы) стабильны. Прогноз был в дальнейшем подтвержден резким ухудшением как фенотипических (некрозы и пожелтение листовой пластинки, опадение листьев, завязей, угнетение общего состояния), так и биохимических (снижение ферментативной и фотосинтетической активности) показателей.

Достаточно информативным показателем для определения нативной устойчивости растений может служить количественный и качественный состав свободных аминокислот [Delauney, Verma 1993; Roosens, Willem, Li, Verbruggen, Biessemans, Jacobs, 1999 и др.]. Так аланин, фенилаланин, γ -аминомасляная кислота и пролин, а по нашим данным еще и серин, глутамин, валин, цистеин принимают активное участие в общем адаптивном ответе растительного организма на стрессоры и могут быть использованы в качестве показателей неспецифической устойчивости растений [Тарчевский, 1982; Матвеева, 1986]. Так, при водном, солевом и температурном стрессе наблюдается увеличение уровня пролина и его производных. В опытах Судачковой, Милутиной и Семеновой (2003) показано, что по мере усложнения условий обитания в древесине однолетних побегов сосны, корня и хвое увеличивается общее содержание аминокислот с преобладанием глутамин, серина, глицина и аланина, а в хвое еще и цистеина.

Однако определение качественного и количественного состава свободных аминокислот достаточно трудоемкий, длительный и затратный процесс. Поэтому использование

данного метода для экспресс-диагностики непригодно.

Важную информацию о состоянии растения можно получить методом цитологического анализа.

Любые отклонения внешних условий от оптимальных в первую очередь касаются изменений, которые происходят на уровне клеток. Поэтому эта диагностика является наиболее информативной. Действие стрессоров на растения сопровождается изменением в их метаболизме, как правило, влияя на синтез РНК и ДНК, что в свою очередь сказывается на изменении параметров клетки и внутриклеточных структур. Таким образом, цитологические анализы позволяют фиксировать повреждения на ранних этапах их возникновения. Своевременно выявленные аномалии в развитии различных тканей и органов позволяют в определенной степени воздействовать на эти процессы.

С целью выявления наиболее информативных и доступных (пригодных к экспресс-анализу) методов диагностики физиологического состояния растений нами были проведены различные модельные лабораторные опыты на таких культурах, как фасоль, ель, лилии, шиповник, облепиха, жимолость, смородина, крыжовник, груша, вишня, яблоня. В качестве модельного стрессора использовали обработку метилвиологеном (паракват), являющимся одним из наиболее признанных в мире соединений, вызывающих классический окислительный стресс.

Предварительные опыты показали, что концентрация 0,4 Ммоль/л является летальной для исследуемых культур, 0,2 Ммоль/л — сублетальной, поэтому мы использовали последнюю.

Установлено, что достоверную экспресс-информацию можно получить, определив активность ферментов каталазы и пероксидазы и интенсивность работы фотосистемы-2 по показателю индукции переменной флуоресценции хлорофилла *a* в ассимиляционных тканях (F_v/F_m). Сопоставление данных показателей выявило сильную положительную корреляцию ($r=0,78$) между активностью каталазы и интенсивностью работы фотосистемы-2. Визуальная оценка фенотипической реакции исследуемых растений на обработку (состояние листа, появление некротических пятен и т.д.) подтвердила, что оба показателя адекватно отражали изменения нативного состояния растения при стрессовом воздействии.

В момент наибольшей стресснапряженности отмечена отрицательная корреляция ($r=-0,65$) между активностью каталазы и пероксидазы, где активность пероксидазы значительно превалирует над активностью каталазы. Следовательно, как комплекс данных показателей, так и каждый из них раздельно, в сочетании с показателем дисперсии F_v/F_m могут быть использованы для экспресс-оценки физиологического состояния растения.

Нами также установлено, что динамические характеристики ферментативной и фотосинтетической активности могут служить диагностическими признаками реальной устойчивости растительного организма к абиотическим и биотическим стрессорам. Следует, однако, учитывать, что корректно оценить состояние растения возможно, только получив динамические характеристики данных

показателей в течение, как минимум, одного вегетационного сезона, т.к. направленность и интенсивность обменных процессов меняется в зависимости от фазы развития растения, и, только получив полную картину за весь период вегетации, можно судить о степени устойчивости данного сорта.

Степень устойчивости растений к негативным факторам внешней среды во многом зависит от уровня развития их тканей и органов. Гистологическое изучение зимующих органов растения дает возможность диагностировать повреждения различных тканей и на основе этих данных прогнозировать степень риска повреждений растений в следующем вегетационном периоде и возможную редуциацию завязей.

Недостаточное развитие зачатков цветков в осенне-зимний период может привести к слабой их жизнеспособности весной. Как следствие, снижается завязываемость плодов и урожайность растений. «Переразвитие» зачатков цветков является одним из показателей, позволяющих прогнозировать их возможное повреждение экстремально низкими температурами в зимний период. Для растений яблони в средней зоне садоводства оптимальным к началу зимнего периода является достижение пятого этапа органогенеза. Нами выявлено, что использовать данный показатель (этап развития генеративных почек) для диагностических целей следует в комплексе с мониторингом состояния растений в период вегетации (фотосинтез, ферментативная активность, уровень накопления и редуциции запасных питательных веществ).

По мнению многих авторов [Авилова, Матухин, 1964, 1967; Хисамиева, Семенов, Кошпаева, 2001; Жук, Григорюк, 2003], негативные условия внешней среды в первую очередь влияют на митотическую активность клеток корневых меристем.

В опытах по моделированию воздействия на растения различных стрессовых факторов нами было зафиксировано угнетение пролиферации клеток корневых апексов. Отмечено, что митотический индекс корневых меристем в значительной степени коррелирует с каталазной активностью растений ($r=0,71$).

Полученные результаты позволяют предположить, что активизация функционирования антиоксидантной защиты при воздействии стрессоров является важным диагностическим показателем устойчивости растений к окислительному повреждению, т.е. митотический индекс корневых апексов также может быть индикатором активности корневой системы.

Таким образом, нами выделены показатели, реально отражающие нативное состояние растения и способные служить критерием степени его стрессоростойчивости. Вполне корректными методами экспресс-диагностики являются определение ферментативной и фотосинтетической активности и гистологическо-цитологический мониторинг тканей растений. Используя указанные показатели, можно более дифференцированно и с меньшими затратами принимать эффективные меры по повышению устойчивости растений к абиотическим и биотическим повреждающим факторам. ■

ДИАГНОСТИКА ПОВРЕЖДЕНИЙ РАСТЕНИЙ ЯБЛОНИ НА РАННИХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ РЕАКЦИИ

Е.М. Цуканова, Е.Н. Ткачев

Резюме

Представлены современные методы диагностики физиологического состояния растений и стрессповреждений на ранних этапах развития и рассмотрены новые способы их выявления. Определены диагностические критерии оценки биологического потенциала сортов плодовых культур по совокупности физиолого-биохимических, цитологических и гистологических и биофизических параметров.

Diagnostics of a physiological state of plants is the most urgent problem of a modern horticulture. The investigations conducted allow consideration of enzyme and cytologic diagnostics as sufficiently correct methods of express-diagnostics. These methods reflect in fact a native state of a plant and can be used as a criterion of its stressful state. The efficient measures on increase of plant resistance to abiotic and biotic adverse factors can be developed on the basis of the specified parameters.