

ВЛИЯНИЕ СЕРДЦЕВИННОЙ ГНИЛИ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ДЫХАНИЯ И АКТИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ОСИНЫ

Н. И. ФЕДОРОВ, Е. С. РАПУНОВИЧ

(Белорусский технологический институт им. С. М. Кирова)

Дыхание — одно из наиболее важных свойств растительных организмов. В результате этого процесса освобождается энергия химических веществ и создаются условия для использования этой энергии в синтезах и других процессах жизнедеятельности растений. С характером окислительных процессов, происходящих на заключительном этапе дыхания, по мнению ряда авторов, связана устойчивость растений к грибным и бактериальным болезням.

Среди окислительных ферментов, осуществляющих заключительный этап дыхания, наибольшее распространение в высших растениях имеют полифенолоксидаза, пероксидаза, цитохромоксидаза, аскорбиноксидаза и каталаза, в связи с чем исследование их представляет большой интерес.

Целью нашей работы явилось выяснение изменений в активности окислительных ферментов и дыхания у осины, зараженной ложным осиновым трутовиком (*Phellinus tremulae* Bond. et Sing.), вызывающим сердцевинную гниль стволов.

Известно, что сердцевинная гниль поражает центральную часть ствола и, по мнению многих исследователей, не оказывает влияния на жизнеспособность дерева, а вызывает только технический вред — снижает выход деловой древесины. В то же время исследованиями В. Ф. Купревича, Б. А. Рубина, А. Я. Кокина, Д. Д. Вердеревского, С. Ф. Негруцкого и др. авторов установлено, что при заболевании растений наблюдаются существенные изменения в процессах обмена веществ, приводящие к нарушению важнейших функций и снижению защитных свойств у больших растений. Патологические изменения, происходящие при заболевании растений, весьма разнообразны и зависят, с одной стороны, от вида возбудителя болезни, его физиологической активности, а с другой — от биологических особенностей растения и условий окружающей среды. Изучение этих вопросов способствует познанию физиологической природы устойчивости растений к различным заболеваниям.

Исследования проводились в осиновом насаждении 35-летнего возраста в Заславском лесничестве Минского лесхоза. На пробной площади было отобрано во время цветения по 5 здоровых и зараженных ложным трутовиком деревьев осины мужского и женского пола. Зараженность деревьев устанавливалась по наличию плодовых тел ложного осинового трутовика.

Определение дыхания и активности окислительных ферментов проводилось два раза в месяц на протяжении всего вегетационного периода. В конце вегетации опытные деревья срубались и подвергались детальному исследованию. Энергия дыхания, активность полифенолоксидазы, ци-

тохромоксидазы и аскорбиноксидазы определялись манометрически в приборе Варбурга. Определение активности каталазы производилось газометрическим способом, активность пероксидазы — колориметрическим способом по Бояркину (1951). При изучении полифенолоксидазной активности в качестве субстратов были использованы пирогаллол и пирока-техин + гидрохинон.

Полученные нами данные (табл. 1) показывают, что интенсивность дыхания листьев здоровых и больных деревьев осины изменяется в течение вегетационного периода. В период формирования и роста листа осины характеризуются высокой энергией дыхания, которая при старении листьев и ослаблении физиологических процессов снижается, а в конце вегетации, перед опадением их, вновь возрастает. Увеличение интенсивности дыхания перед опадением листьев наблюдал Эберхард (1955) у дикого винограда. Повышение энергии дыхания перед опадением листьев он связывал с образованием антоциана в стареющих листьях.

Поражение осины сердцевинной гнилью не оказывает существенного влияния на интенсивность дыхания в листьях, так как они находятся на значительном расстоянии от места развития гнили. Дыхательный коэффициент, характеризующий качественную сторону дыхания, у здоровых и у больных деревьев близок к единице. Следовательно, изменений в использовании органических веществ в качестве дыхательного субстрата у больных деревьев не происходит.

В результате инфекции у растений могут возникать существенные изменения в степени участия отдельных окислительно-восстановительных ферментов на заключительном этапе биологического окисления, что не всегда отражается величиной дыхания. Н. М. Сисакян и Б. А. Рубин (1944) впервые установили смену одной окислительной ферментной системы другой в процессе развития яблони. Они показали, что по мере старения в листьях яблони падает активность пероксидазы при одновременном возрастании активности полифенолоксидазы. Позже Б. А. Рубин и др. (1955) при изучении активности цитохромоксидазы и полифенолоксидазы в тканях яблони пришли к выводу, что соотношение между активностью этих ферментов в течение вегетации не остается постоянным.

Наши данные (см. табл. 1) свидетельствуют о том, что в листьях деревьев осины в процессе их старения происходят изменения в окислительной системе. У здоровых деревьев наиболее высокая активность полифенолоксидазы и пероксидазы наблюдается в августе, а каталазы — в начале лета. В течение вегетационного периода происходит активирование цитохромоксидазы и аскорбиноксидазы, максимального значения их активность достигает в сентябре.

Б. А. Рубин (1960) показал, что и при развитии патогенных организмов в растении-хозяине система ферментов, катализирующих дыхание, перестраивается. По его мнению, эта перестройка обусловлена неодинаковой чувствительностью отдельных элементов окислительной системы к продуктам жизнедеятельности микроорганизмов (токсинам). По нашим данным, заражение осины ложным трутовиком приводит к увеличению активности полифенолоксидазы и пероксидазы, которые играют важную роль в окислительных процессах растений. При этом активирование ферментов в большей степени отмечено в первой половине вегетационного периода, в меньшей — в конце вегетации. Активность цитохромоксидазы и аскорбиноксидазы у больных деревьев снижается и повышается только осенью перед опадением листьев. Изменений в активности каталазы в листьях пораженных деревьев не отмечено.

Таблица 1

Интенсивность дыхания и активность окислительных ферментов
и листьев здоровых и больных деревьев осины (данные за 1966 г.)

Интенсивность дыхания, активность фермента	Дата								
	7.VI	24.VI	8.VII	22.VII	8.VIII	22.VIII	12.IX		
Дыхание, мкл O ₂ г/час	920,1	917,8	675,0	732,7	844,7	745,2	1085,4		
Дыхательный коэффициент	913,7	823,4	786,1	784,6	702,0	756,3	1004,5		
Полифенолоксидаза, мкл O ₂ г/час, субстрат-пирогаллол	—	—	0,90	—	0,93	—	—		
Полифенолоксидаза, мкл O ₂ г/час, субстрат-пирогаллол	3511,0	3755,3	3169,4	3734,8	4266,5	4970,7	3391,6		
Полифенолоксидаза, мкл O ₂ г/час, субстрат-пирокатехин + ги- дрохинон	3770,5	4210,7	3688,8	3764,0	4373,0	4590,1	4943,3		
Пероксидаза, усл. един. по Бояркину	5395,6	5155,3	3441,5	5574,2	5532,3	4985,7	4119,2		
Цитохромоксидаза, мкл O ₂ г/час	5410,6	5448,2	3626,2	5414,8	5262,7	5416,3	4409,7		
Аскорбинооксидаза, мкл O ₂ г/час	108,5	123,9	115,7	109,3	145,0	128,2	95,1		
Каталаза, мкл O ₂ г/мин	158,9	143,9	182,2	143,3	180,7	132,5	126,8		
	1450,3	2400,8	2352,2	2213,1	2193,4	2967,2	4035,7		
	1240,2	1420,2	1837,8	2149,3	2553,8	2038,1	4370,2		
	2993,5	2011,4	1522,6	1971,7	3080,5	3001,2	3669,0		
	2100,5	1965,3	1726,1	1811,6	2775,1	2300,9	3720,5		
	60,1	63,4	63,5	61,2	73,5	23,3	15,1		
	52,3	55,5	62,8	64,2	56,3	31,3	17,0		

Примечание. В первой строчке приводятся данные для здоровых деревьев, во второй — для больных.

Таблица 2

Интенсивность дыхания и активность окислительных ферментов в побегах, лубе и древесине осины (образцы взяты 12. IX 1966 г.)

Интенсивность дыхания, активность фермента	Листья	Побеги		Луб			Заболонь			Спелая древесина	Ложное ядро	Раннее ядро	Типичная гниль
		1-лет-ние	2-лет-ние	на 1,3 м	под кроной	в кроне	на 1,3 м	под кроной	в кроне				
Дыхание, мкл O ₂ г/час	1085,4 1004,5	489,8 500,0	406,2 285,4	175,6 148,7	231,6 176,9	287,3 277,8	41,9 53,5	76,4 80,3	188,2 144,5	37,0 —	— 22,4	— 18,4	— 15,2
Полифенолоксидаза, мкл O ₂ г/час, субстрат—пирогаллол	3391,6 4943,3	2539,8 2877,1	2428,2 2722,2	2406,6 2620,6	1896,8 2159,1	1837,8 1851,3	1458,8 1413,4	768,8 747,8	1761,1 1705,3	1390,4 —	— 1490,9	— 1327,4	— 991,5
Полифенолоксидаза, мкл O ₂ г/час, субстрат—пирокатехин+гидрохинон	4119,2 4409,7	2220,0 2587,0	2456,7 2469,1	346,3 1393,4	335,2 518,2	174,8 415,0	159,0 149,2	114,9 128,8	161,1 103,0	— —	— 123,4	— 173,2	— 193,2
Пироксидаза, усл. един. по Бояркину	95,1 126,8	151,9 127,7	106,0 109,2	49,6 62,0	39,3 37,9	36,2 28,5	6,3 5,2	7,3 4,5	7,8 7,0	2,0 —	— 2,2	— 1,4	— 1,3
Цитохромоксидаза, мкл O ₂ г/час	4035,7 4370,2	1257,6 900,6	2492,2 1000,7	476,1 459,6	433,1 325,0	421,5 351,1	102,8 117,2	132,0 128,2	142,7 119,6	123,7 —	— 150,4	— 56,9	— 136,8
Аскорбинооксидаза, мкл O ₂ г/час	3669,0 3720,5	983,0 1338,2	1902,0 1069,5	392,1 792,7	383,3 575,1	561,9 569,5	263,6 196,9	382,1 244,8	370,4 366,3	114,4 —	— 132,7	— 94,6	— 118,1
Каталаза, мкл O ₂ г/мин	15,1 17,0	3,8 4,1	3,9 4,5	2,0 2,5	3,4 2,7	3,0 1,7	1,6 1,7	1,8 1,6	1,5 1,3	0,9 —	— 1,0	— 0,9	— 1,4

Примечание. В первой строке приводятся данные для здоровых деревьев, во второй—для больных.

Исследование интенсивности дыхания и активности окислительных ферментов, проведенные в различных частях деревьев осины (табл. 2), показали, что окислительные процессы наиболее интенсивно происходят в листьях и резко снижаются в побегах, лубяной части коры и особенно заболони, которая характеризуется небольшим количеством живых элементов и низкой физиологической активностью. Так, например, энергия дыхания в побегах осины в три раза, в лубяной части коры в три-четыре раза и в заболони в пять-десять раз ниже, чем в листьях.

Под влиянием грибной инфекции у больных деревьев наблюдается снижение интенсивности дыхания в лубяной части коры и незначительное повышение его в заболони, расположенной на некотором расстоянии от места развития сердцевинной гнили.

Роль отдельных ферментов в защитных реакциях растений не совсем выяснена. Многие исследователи большую роль в иммунитете отводят пероксидазе и полифенолоксидазе. По данным М. И. Дементьевой (1961), существует положительная корреляция между устойчивостью крыжовника к мучнистой росе и уровнем пероксидазной активности. Положительная корреляция между устойчивостью некоторых сортов картофеля к фитофторе и активностью пероксидазы получена А. И. Гречушниковым (1939), А. И. Гречушниковым и Г. Н. Попковой (1958) и др. Исключительно важную роль окислительных ферментов, в том числе полифенолоксидазы, в иммунитете растений подчеркивали Б. А. Рубин (1960), К. Tomiyama и др. (1958), E. Christiansen-Weniger (1955) и др.

Изучая энзиматическую природу сверхчувствительности картофеля, пораженного фитофторой, Б. А. Рубин установил, что при заражении тканей устойчивого сорта наблюдается резкое возрастание активности полифенолоксидазы. Повышенная активность полифенолоксидазы рассматривается как ответная реакция растительного организма на внедрение паразита. E. Christiansen-Weniger показал, что благодаря действию полифенолоксидазы образуются токсические для гриба хиноны.

Следует отметить, что активность полифенолоксидазы и пероксидазы в древесине осины (в заболонной и спелодревесной части) низкая и значительно ниже, чем в других частях дерева, причем у больных и здоровых деревьев находится на одном уровне, что позволяет предположить слабую чувствительность полифенолоксидазы к грибу *Phellinus tremulae* и неспособность ее оказывать сопротивление внедрению и распространению данного гриба в стволе осины.

Развитие сердцевинной гнили в стволах осины вызывает некоторое активирование полифенолоксидазы и пероксидазы в лубяной части коры и в древесине, находящейся в первой стадии загнивания, и снижение активности этих ферментов в гнилой древесине (см. табл. 2). Образование ложного ядра в стволах осины приводит также к повышению активности цитохромоксидазы и аскорбиноксидазы. В зоне наиболее активного развития грибницы (раневое ядро), находящейся на границе со здоровой древесиной, активность окислительных ферментов обычно снижается и продолжает падать при дальнейшем разрушении древесины.

Проведенные исследования показали, что поражение осины сердцевинной гнилью оказывает влияние на интенсивность дыхания и активность окислительных ферментов в листьях и побегах и более сильное влияние непосредственно в местах развития грибницы.

Л и т е р а т у р а

- Бояркин А. Н. 1951. Быстрый метод определения активности пероксидазы. «Биохимия», вып. 4, № 16. Вердеревский Д. Д. 1959. Иммуниет растений к паразитным болезням. М. Гречушников А. И. 1939. Значение пероксидазы в иммунитете к *Ph. infestans* de By, ДАН СССР, т. 25 № 8. Гречушников А. И., Попкова К. В. 1958. Снижение устойчивости к *Ph. infestans* окольцованных листьев фитофтороустойчивых сортов картофеля. Изв. АН СССР, № 4. Дементьева М. И. 1961. Биохимические факторы иммунитета крыжовника к американской мучнистой росе. В кн.: Иммуниет растений к болезням и вредителям. М. Кокин А. Я. 1948. Исследование больного растения. Петроза-водск. Куревич В. Ф. 1947. Физиология больного растения в связи с общими вопроса-ми паразитизма. М.—Л. Негруцкий С. Ф. 1963. Гриб *Fomitopsis annosa* (корневая губка) и патофизиология зараженного дерева. Автореф. докт. дисс. Л. Рубин Б. А., Чет-вертикова Е. П., Арциховская Е. В. 1955. Окислительная система и иммуниет расте-ний. Журн. общ. биол., т. 16, № 2. Рубин Б. А. 1960. Дыхание и его роль в иммунитете растений. М. Сисакян Н. М., Рубин Б. А. 1944. О причинах возрастной инактивности пероксидазы в листьях яблони. «Биохимия», вып. 6, № 9. Eberhardt F. 1955. Der Atmungs-verlauf alternder Blätter und reifender Früchte. Planta, 45. Tomiyama K, Takaku-wa M., Takase N. 1958. The metabolik activity in healthy tissue neighboring the infec-ten cells in relation to resistance to *Ph. infestans* (Mont. de By in Potatoes). Phyto-pathology, v. 31. Christiansen-Weniger E. 1955. Versuche zur stoffwechselphysiologisch-en Beeinflussung der Reaction der Kartoffelknolle auf *Ph. infestans* de By. Phytopat-hol. Z., Bd. 25, H. 1—4.