

<https://doi.org/10.3176/biol.1984.2.06>

Тынис ВАРДЬЯ

УДК 577.15/17; 581.2+632.42/49

ВЛИЯНИЕ КИНЕТИНА И АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПОРАЖАЕМОСТЬ АСТР МУЧНИСТОЙ РОСОЙ И НА СИСТЕМУ ПОЛИФЕНОЛ—ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗА—ПЕРОКСИДАЗА

Мучнистая роса — облигатный паразит, который поражает преимущественно молодые листья и побеги растений. В некоторых случаях мучнистая роса исчезает с листьев при их старении. Часты случаи появления т. н. зеленых островков на пораженных мучнистой росой участках листа, что говорит о повышении в них содержания хлорофилла. Последнее связано, очевидно, с изменением содержания кинетиноподобных веществ в пораженных тканях. Предполагается, что мучнистая роса выделяет в растение кинетиноподобные вещества, т. е. под влиянием облигатных паразитов в растениях повышается синтез цитокининов. Последний факт нашел и экспериментальное подтверждение (Vizárova, 1973; Sziráki и др., 1976; Vizárova, 1976; Vizárova, Kováčova, 1980). При этом облигатный паразит, как бы омоловив растение, повышает его восприимчивость к паразитам. Исходя из этого, экзогенный цитокинин должен снижать болезнеустойчивость растений к облигатным паразитам. Однако литературные данные показывают, что реакция на экзогенный кинетин зависит даже от сорта исследуемого вида растения (Мандре, 1980).

Накопление абсцизовой кислоты в листьях растений вызывает их старение и опадание, т. е. катаболические процессы метаболизма доминируют над синтезирующими. Этим можно было бы объяснить исчезновение мучнистой росы со старых листьев. Данные о влиянии абсцизовой кислоты на болезнеустойчивость растений очень скупы. Найдено, что абсцизовая кислота стимулирует рост некоторых факультативных паразитов (Pegg, 1976). Экзогенная абсцизовая кислота ингибирует накопление фитоалексинов в срезах клубней картофеля (Heinfling и др., 1980).

Влияние кинетина и абсцизовой кислоты на активность полифенолоксидазы и пероксидазы различное. Иногда абсцизовая кислота, а также кинетин, снижают активность пероксидазы (Fries, 1972; Gaspar и др., 1973), а иногда повышают ее (Gaspar и др., 1973).

Целью данной работы было изучение влияния вышеуказанных, противоположных по своему физиологическому действию, фитогормонов на поражаемость астр мучнистой росой, а в связи с этим и влияние на систему полифенолоксидаза—пероксидаза—полифенолы, по данным литературы, играющую весьма большую роль в иммунитете растений. Хлорогеновая кислота как один из самых распространенных о-дифенолов оказывает особое влияние на вышеупомянутую систему.

Опыты проводили в полевых условиях. Исследовали 3 вида астр, различных по устойчивости к мучнистой росе, *Aster foliaceus*, *A. fremontii*, *A. ptarmicoides*. Растения опрыскивали водным раствором кинетина (200 мг/л) и абсцизовой кислотой (0,5 мг/л), выделенной из листьев яблони по одной из методик (Milbrogow, 1967) в сентябре 1968 г. Для контроля брали необработанные растения тех же видов. В каждом варианте опыта было 6 трехлетних кустов, растущих рядами на грядке. Растения опрыскивали через каждые 7 дней с 10 июля по 20 августа. Материал для определения фенольных соединений и активности полифенолоксидазы и пероксидазы был собран через 24 ч после опрыскивания. Для исследования брали листья (от третьего до пятого) в верхней части стебля (молодые но взрослые листья). Для определения фенольных соединений брали 5 г свежего материала, а для исследования активностей ферментов 0,5—1,0 г в зависимости от активности фермента. Экстрагирование фенольных соединений проводили четырехкратно через 2 ч 70%-ным этанолом в термостате при температуре 50° С. Объединенные этанольные экстракты фенольных соединений хроматографировали восходящей двухмерной хроматографией (растворители *n*-бутанол-CH₃COOH-H₂O, 3:2:95 и *n*-бутанол-H₂O-CH₃COOH, 4:5:1). Хлорогеновую кислоту идентифицировали путем сравнения имеющегося в продаже препарата (Олайнский завод химреактивов) с нативной хлорогеновой кислотой, полученной трехкратной препаративной хроматографией на бумаге из этанольных экстрактов (*R_f* в разных растворителях; УФ-спектр поглощения; флуоресценция в УФ свете; флуоресценция в УФ-свете, в парах аммиака). Содержание хлорогеновой кислоты определяли на спектрофотометре при 327 нм. Активность полифенолоксидазы и пероксидазы определяли по методу Бояркина (Ермаков, 1972), а коэффициент поражения растений — по методу Кариса (Karis, 1957), переработанному для точного определения степени и интенсивности поражения растений мучнисто-росяных грибов (Karis, Rumberg, 1966; Румберг, 1974).

Результаты и обсуждение

Обработанные кинетином растения отличались от контрольных более зеленой окраской листьев. *A. ptarmicoides*, который цвел уже во время первого опрыскивания, дал новые побеги. *A. foliaceus* (контрольное растение) открыл бутоны 26 июля, а растения, обработанные кинетином, открыли бутоны лишь 5 августа. Под влиянием кинетина почти на 5 дней задерживалось цветение *A. fremontii*. К 20 августа обработанные растения были более ветвистыми, чем контрольные, хоть и немного ниже. Последние фенологические наблюдения были проведены 25 октября. В это время листья растений, обработанных кинетином, сохраняли зеленую окраску почти по всему побегу. Цветение контрольных растений *A. fremontii* к этому времени окончилось, а растения, обработанные кинетином, еще цвели.

Обработка астр абсцизовой кислотой до 24 июля не дала фенологических изменений. После опрыскивания астр 31 июля отмечено постепенное пожелтение нижних листьев стебля. Цветки *A. foliaceus* были по размерам немного меньше, чем у контрольных растений. В отличие от контрольных у растений *A. fremontii*, обработанных абсцизовой кислотой, задерживался рост стебля. После конечных опрыскиваний 14 и 20 августа признаки старения углубились. К 23 августа *A. ptarmicoides* перестал цвести. Листья *A. fremontii* стали светло зелеными до верх-

Коэффициенты поражения астр мучнистой росой

Вид	Вариант обработки	Дата определения							
		10 июля	17 июля	24 июля	31 июля	7 августа	14 августа	20 августа	25 сентября
<i>Aster fremontii</i>	Контроль	0	0	0	0	1,2	2,4	3,4	15,2
	Кинетином	0	0	0	0	1,7	2,3	4,2	19,6
	Абсцизовой кислотой	0	0	0	0	0	1,3	3,8	1,3
<i>A. foliaceus</i>	Контроль	0	0	0	0,8	2,9	2,9	6,8	14,3
	Кинетином	0	0	0	0	3,2	3,8	9,2	17,2
	Абсцизовой кислотой	0	0	0	0	2,1	2,6	6,0	10,8
<i>A. ptarmicoides</i>	Контроль	0	0	0	0	0,7	0,9	1,3	7,3
	Кинетином	0	0	0	0,5	0,5	0,6	1,9	9,2
	Абсцизовой кислотой	0	0	0	0	0	0,5	2,6	3,8

Таблица 2

Содержание хлорогеновой кислоты в листьях астр через 24 ч после обработки кинетином и абсцизовой кислотой (в мг/г абс. сух. вещества)

Вид	Вариант обработки	Дата обработки					
		10 июля	24 июля	31 июля	7 августа	14 августа	20 августа
<i>Aster fremontii</i>	Контроль	33,4	33,1	30,2	28,3	26,3	26,8
	Кинетином	33,8	40,1	40,6	44,8	43,2	44,2
	Абсцизовой кислотой	33,2	33,8	33,7	25,6	25,1	25,3
<i>A. foliaceus</i>	Контроль	27,5	26,4	27,1	26,8	28,2	26,5
	Кинетином	29,7	29,3	29,6	29,9	29,6	30,2
	Абсцизовой кислотой	29,2	26,4	26,3	26,6	25,3	23,6
<i>A. ptarmicoides</i>	Контроль	22,6	24,8	24,9	27,7	26,2	21,2
	Кинетином	26,7	27,7	28,6	29,8	29,6	29,7
	Абсцизовой кислотой	22,9	20,8	20,6	20,3	20,8	18,6

них частей побегов, хотя цветение продолжалось. Меньше всего абсцизовая кислота повлияла на пожелтение и опадание листьев *A. foliaceus*.

Первые признаки поражения астр мучнистой росой отмечены 31 июля. Поражены были контрольные растения *A. foliaceus* и обработанные кинетином *A. ptarmicoides* (табл. 1). Со временем коэффициент пораженности возрос. Обработка растений кинетином несколько повышала, а обработка абсцизовой кислотой снижала восприимчивость астр исследуемых видов к мучнистой росе.

Содержание хлорогеновой кислоты (табл. 2) в листьях всех исследуемых растений при обработке кинетином повышалось. Влияние абсцизовой кислоты на содержание хлорогеновой в обработанных абсцизовой кислотой растениях менее заметно, хоть и имеется тенденция к снижению содержания хлорогеновой кислоты. Активность полифенолоксидазы и пероксидазы при обработке растений абсцизовой кислотой и кинетином изменяется мало, но обычно в некоторой степени кинетин снижает, а абсцизовая кислота повышает активность приведенных ферментов (табл. 3). Снижение активности этих ферментов под влиянием

Активность полифенолоксидазы (Пол-О) и пероксидазы (Пер-О) в листьях астр через 24 ч после опрыскивания кинетином и абсцизовой кислотой (в усл. ед. $\times 10$ на 1 г свежего материала)

Вид	Вариант обработки	Дата определения											
		10 июля		24 июля		7 августа		14 августа					
		Пол-О	Пер-О	Пол-О	Пер-О	Пол-О	Пер-О	Пол-О	Пер-О				
<i>Aster fremontii</i>	Контроль	0,51±0,02	1,32±0,04	0,54±0,02	1,33±0,05	0,73±0,03	1,64±0,04	1,01±0,01	1,93±0,02				
	Кинетином	0,73±0,01	1,54±0,02	0,52±0,01	1,02±0,03	0,81±0,03	1,62±0,04	0,82±0,02	1,64±0,04				
	Абсцизовой кислотой	0,54±0,02	1,23±0,03	1,13±0,02	1,74±0,05	1,12±0,02	2,63±0,05	1,22±0,03	2,20±0,02				
<i>A. foliaceus</i>	Контроль	32,2±0,1	0,52±0,02	35,1±0,2	0,73±0,05	42,5±0,5	1,04±0,02	42,2±0,3	1,01±0,01				
	Кинетином	28,4±0,2	0,54±0,02	26,4±0,4	0,44±0,05	36,3±0,2	0,91±0,04	38,3±0,4	1,00±0,02				
	Абсцизовой кислотой	34,8±0,1	0,62±0,01	39,4±0,3	0,81±0,02	43,1±0,4	0,98±0,02	41,2±0,3	1,23±0,04				
<i>A. ptarmicoides</i>	Контроль	26,3±0,2	1,24±0,05	23,3±0,2	1,01±0,05	29,1±0,1	1,83±0,07	32,1±0,1	1,82±0,03				
	Кинетином	24,1±0,3	1,21±0,01	20,0±0,2	0,93±0,06	23,3±0,3	1,61±0,01	30,3±0,3	1,63±0,03				
	Абсцизовой кислотой	28,2±0,2	0,53±0,02	28,1±0,2	1,90±0,02	29,2±0,2	2,04±0,01	29,4±0,1	2,01±0,03				

кинетина отмечалось и после поражения растения мучнистой росой, несмотря на то, что поражение само по себе вызывает повышение активности полифенолоксидазы и пероксидазы в астрах (Вардья, 1981).

Полученные данные показывают, что экзогенные регуляторы роста изменяют устойчивость астр к мучнистой росе, но биохимические изменения в метаболизме не соответствуют теории, по которой увеличение содержания *o*-дифенолов и окисляющих их ферментов повышает устойчивость растений к различным болезням, в том числе и к поражению мучнистой росой (Farkas, Kiraly, 1962; Frič, 1969).

Экзогенный кинетин повышал содержание хлорогеновой кислоты, но это не снижало, а повышало восприимчивость астр к мучнистой росе. Следовательно, влияние кинетина на восприимчивость астр к мучнистой росе не зависит от метаболизма *o*-дифенолов (в данном случае — хлорогеновой кислоты). При обработке астр кинетином снижалась активность полифенолоксидазы и пероксидазы. По данным литературы, пониженная активность этих ферментов говорит о восприимчивости растений к различным болезням (Tripathi и др., 1974; Лобань, 1977; Salem, 1981). Этот факт как будто подтверждается вышеприведенной гипотезой. Но вместе взятые повышение содержания хлорогеновой кислоты и снижение активности ферментов противоречат друг другу.

Обработка растений абсцизовой кислотой и кинетином привела к противоположным выводам как о поражаемости растений, так и о изменениях метаболизма. Из этого следует, что изменение устойчивости астр к мучнистой росе не зависит от системы полифенол—полифенолоксидаза—пероксидаза.

ЛИТЕРАТУРА

- Вардья Т. Влияние некоторых паразитов на активность монооксигеназы монофенола и пероксидазы в астрах. — В кн.: Биологические основы резистентности растений. Тезисы докладов. Таллин, 1981, 38.
- Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений. Л., 1972.
- Лобань В. Л. Изменение активности пероксидазы и цитохромоксидазы в тканях озимой пшеницы в зависимости от устойчивости сорта к бурой листовой ржавчине. — Науч. тр. Укр. с.-х. акад., 1977, 196, 26.
- Мандре М. Сравнительное действие экзогенных регуляторов роста на развитие сорта роз и их устойчивость к мучнистой росе. — В кн.: Всесоюзная школа передового опыта специалистов-цветоводов. Таллин, 1980, 18.
- Румберг В. О болезнеустойчивости сортов роз в условиях Эстонской ССР. — В кн.: Болезнеустойчивость растений. Таллин, 1974.
- Farkas, G. L., Kiraly, Z. Role of phenolic compounds in the physiology of plant disease and disease resistance. — *Phytopathol. Z.* 1962, 44, 105.
- Fries, D. Actions de l'acide abscisique et la kinétine sur la croissance, l'activité peroxydasique et le spectre des isopéroxydases de *Lens culinaris* Med. — *Ann. physiol. veg. Univ. Bruxelles.* 1972, 17, 83.
- Frič, F. Phenolische Stoffe und Oxydasen vom Standpunkt der Resistenz von Gerste gegen Mehltau (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* Marchal.). — *Biologia*, 1969, 24, 54.
- Gaspar, Th., Khan, A. A., Fries, D. Hormonal control of isoperoxidases in lentil embryonic axis. — *Plant Physiol.*, 1973, 51, 146.
- Gaspar, Th., Peppaz-Misson, C., Corduroux, J.-C. Isoperoxidases in peroxidase in Jerusalem artichoke in relation to tuberization and dormancy. — *Biol. plant. Acad. sci. bohemosl.*, 1973, 15, 339.
- Heinfting, J. W. D. M., Bostock, R., Kuč, J. Effect of abscissic acid on rishitin and lubimin accumulation on resistance to *Phytophthora infestans* and *Gladosporium cucumerinum* in potato tuber slices. — *Phytopathology*, 1980, 70, 1074.
- Karis, H. Mõningate mikroelementide mõjust tomati resistentusele pruunlaiksuse ja pruunmädaniku suhtes. — EPA teaduslike tööde kogumik. 1957, 3, 127.
- Karis, H., Rumberg, V. Jahukasteseened dekoratiivtaimedel. Tallinn, 1966, 3—191.
- Milborrow, B. V. The identification of (+) abscissin II (±) dormin in plants and measurement of its concentrations. — *Planta (Bul.)*. 1967, 76, 93.
- Pegg, G. F. Endogenous inhibitors in healthy and diseased plants. — *Physiol. Plant Pathol. (Berlin e. a.)*, 1976, 607.
- Salem, M. A., Michail, S. H. The role of polyphenols, oxidative and macerating

enzymes in onion bulb cultivars infected with *Botrytis allii*. — Acta phytopathol. Acad. sci. hung., 1981, 16, 59.

- Sziràki, I., Barna, B., El Wasiri, S., Király, Z. Effect of rust infection on the cytokinin level of wheat cultivars susceptible and resistant to *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. — Acta phytopathol. Acad. sci. hung., 1976 (1977), 11, 155.
- Tripathi, R. K., Verma, M. N., Grypta, V. K. Peroxidase activity and isoenzymes in relation to resistance to potatoes against rotting. — Indian J. Exp. Biol., 1974, 12, 591.
- Vizàrova, G. Contribution to the study of barley infected by powdery mildew. — Pr. Inst. sadovn. Skierniewiczych, 1973, Ser. E, 3, 559.
- Vizàrova, G. Rastové látky v jačmeni po ochorení na múčnatku. — Biol. pr., 1976, 22, 89.
- Vizàrova, G. Zmeny hladiny vojných cytokinínov v násylney a rezistentney ograde jačmenä v priebehu ochorenia múčnatkou trávnuou. — Acta Inst. bot. Acad. sci. slov. (CSSR), 1976, Ser. B, 1, 127.
- Vizàrova, G., Kováčova, M. Stúdiu volných cytokinínov v koreňoch jačmenä v procese patogénězy múčnatky tenkovrstevnou chromatografiou. — Biologia (CSSR), 1980, 35, 727.

Таллинский ботанический сад
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
28/IV 1983

Tõnis VARDJA

KINETIINI JA ABSTSISIINHAPPE TOIME ASTRITE HAIGESTUMISELE JAHUKASTESSE JA SÜSTEEMILE POLÜFENOL — POLÜFENOLOKSIDAAS — PEROKSIDAAS

Kolme liiki astritaimi pritsiti kinetiini (200 mg/l) ja abstsisiinhappe (0,5 mg/l) vesilahusega. Kinetiini toimel suurenes astrite vastuvõtlikkus jahukastele, abstsisiinhappe toimel see vähenes. Kinetiini suurendas klorogeenhappe sisaldust taimedes ja vähendas polüfenooloksidaasi ja peroksidaasi aktiivsust, abstsisiinhappe aga vähendas klorogeenhappe sisaldust ja suurendas polüfenooloksidaasi ja peroksidaasi aktiivsust. On tehtud järeldus, et astrite haiguskindluse muutumine kinetiini ja abstsisiinhappe toimel ei sõltu süsteemist polüfenool — polüfenooloksidaas — peroksidaas.

Tõnis VARDJA

THE EFFECT OF ABSCISSINIC ACID AND KINETIN ON THE RESISTANCE OF ASTERS TO POWDERY MILDEW AND TO THE SYSTEM OF POLYPHENOL—POLYPHENOLOXIDASE—PEROXIDASE

Spraying 3 species of asters with water solution of kinetin (200 mg/l) increased the susceptibility of these species to powdery mildew. Spraying asters with abscissinic acid (0.5 mg/l) decreased the susceptibility. The treatment of asters with kinetin increased the content of chlorogenic acid in leaves and decreased the polyphenoloxidase and peroxidase activity; the treatment of asters with abscissinic acid likewise decreased the polyphenoloxidase and peroxidase activity. It is concluded that the changes in the immunity of asters which have been caused by kinetin and abscissinic acid do not depend on the system polyphenol—polyphenoloxidase—peroxidase.