

МАЛЛЕ МАНДРЕ

## НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ПЛАСТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ У РОЗ, ПОРАЖЕННЫХ МУЧНИСТОЙ РОСОЙ

В литературе, посвященной различным заболеваниям растений, особое внимание уделяется биохимическим изменениям в тканях пораженного растения. В работе Э. Гоймана (1954) различаются два типа защитных реакций, возникающих при поражении растений облигатными паразитами, направленных непосредственно против самого возбудителя и имеющих целью ослабить и уничтожить его: плазматические или биохимические защитные реакции и абортивные или некрогенные защитные реакции. Плазматические защитные реакции, направленные на ослабление, локализацию и уничтожение возбудителя, наблюдаются как при хронических заболеваниях, так и при острых инфекционных болезнях. Благодаря этим реакциям распространение паразита локализуется, а затем прекращается. Однако плазматические реакции в большинстве случаев могут лишь ослабить и локализовать паразитов, но не уничтожить. В некоторых случаях при облигатном паразитизме вступают в действие некрогенные или абортивные защитные свойства реакции. Они обладают способностью уничтожать возбудителя у растений, восприимчивых к заражению грибом. Под действием паразита в клетках растений происходят биохимические процессы, ведущие к отмиранию растительных клеток, но вместе с клетками погибает и облигатный паразит, который может существовать только на живом субстрате.

Б. Рубин и Е. Арциховская (1968) называют реакции такого типа реакциями «сверхчувствительности», благодаря которым восприимчивые к облигатным паразитам растения не поражаются. Эти растения обладают не истинной, а кажущейся устойчивостью, для обозначения которой Э. Гойман (1954) использует выражение «полевая устойчивость». Истинная же устойчивость основана исключительно на плазматических реакциях организма.

Биохимические изменения, происходящие в растениях при поражении, еще недостаточно изучены. Поэтому часто невозможно определить, являются ли эти изменения в тканях растений защитными реакциями или только результатом нарушений метаболизма паразитом.

В Таллинском ботаническом саду в течение трех лет (1967—1969) изучались биохимические изменения в листьях роз, пораженных облигатным паразитом — мучнистой росой (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*).

### Материал и методика

Объектами исследований служили два сорта роз 'Baccara' и 'Kordes' Sondermeldung'. Биохимические анализы проводились в период споруляции гриба мучнистой росы, когда наиболее интенсивны защитные процессы в клетках растений (Pozsak и др., 1966). Анализу подвергались третий и четвертый сверху листья побега, часть которых

была здоровой, часть — больной. У больных листьев вырезались место заболевания, затем здоровые клетки, окружающие пораженные ткани на расстоянии 0,0—0,5 см, а после этого оставшиеся здоровые клетки на расстоянии 0,5—2,0 см от места заболевания. При помощи такого анализа можно выявить происходящие при заболевании изменения в обмене веществ и их амплитуду.

При определении сахаридов и свободных аминокислот использованы описанные в литературе методы (Павлинова, 1962; Успенская, Кретович, 1962; Хайс, Машек, 1962). Сахариды экстрагировались водой при 45°C. Для определения их применен метод нисходящей хроматографии на бумаге, при этом растворителем служила смесь — *n*-бутанол:ледяная уксусная кислота:вода (4:1:5). В качестве проявителя использовался *n*-аминофенол и в результате идентифицированы три основных сахара: сахароза ( $R_f=0,39$ ) — после проявления желтовато-коричневая, глюкоза ( $R_f=0,48$ ) — среднего коричневого цвета и фруктоза ( $R_f=0,65$ ) — лимонно-желтая.

Из того же сырого материала свободные аминокислоты экстрагировались при помощи 85%-ного этанола при температуре 45°. Их качественное содержание установлено в лаборатории биохимии Эстонского института животноводства и ветеринарии анализатором аминокислот Hitachi KL-3B. Материал, оставшийся после экстрагирования свободных аминокислот и сахаридов, гидролизовался в течение 24 ч с 6 н. HCl для определения связанных аминокислот (кроме тех, которые содержат альбумины и проламины, так как эти белки растворяются в воде и алкоголе и были осаждены уже в ходе предыдущего анализа и не подвергались определению).

Количественный анализ свободных и связанных аминокислот проводился электрофорезом на бумаге в течение 3 ч под напряжением 500 в и при силе тока 20—30 мА с применением фосфатного буфера рН 6,9. Аминокислоты проявлялись с помощью этанолового раствора нингидрина, они денситометрированы и выражены в единицах денситометра.

При экстрагировании антоциановых пигментов использованы методы, рекомендованные в литературе (Bate-Smith, 1962; Margna, 1965; Колесников, Зорэ, 1961). Количество антоциановых пигментов определялось с помощью спектрофотометра СФ-10 и было выражено соответствующей калибровочной кривой в миллиграммах конг. красного.

## Результаты опытов

**1. Изменения в содержании сахаридов.** При рассмотрении биохимических процессов, происходящих в пораженных растениях, особое внимание уделяется углеводам — первичным продуктам фотосинтеза. Вопрос о роли их в ответных реакциях растений на поражение еще далек от окончательного разрешения.

С одной стороны, имеется предположение, что общее содержание растворимых углеводов растений снижается при заражении облигатными паразитами (Нилова, Степанова, 1958). С другой стороны, предполагается увеличение содержания углеводов при облигатном паразитизме (Fric, 1964; Новикова, 1937).

На основании полученных результатов (табл. 1) можно сделать вывод, что общее содержание растворимых углеводов в листьях роз при заражении повышается. Максимум растворимых углеводов содержали пораженные клетки листьев. В здоровых клетках, находившихся на расстоянии 0,0—0,5 см от пораженного места, количество сахаридов было меньше. Еще меньше оказалось их в здоровых клетках, расположенных еще дальше от больного места. Это свидетельствует о том, что изменения в углеводном метаболизме при поражении роз мучнистой росой происходят не только в инфицированных клетках, но и непосредственно вокруг них.

При сравнении отдельных идентифицированных сахаридов между собой выяснилось, что содержание моносахаридов — глюкозы и фруктозы — в листьях роз, пораженных мучнистой росой, увеличилось. Мож-

Таблица 1

## Содержание сахаридов в листьях роз, пораженных мучнистой росой

Сорт Дата	Расстояние от поражен- ного места, см	Сахариды, мг/г сырого вещества			
		сахароза	глюкоза	фруктоза	Сумма
'Kordes'	0,0	3,21±0,01	2,31±0,03	2,90±0,02	8,42±0,01
Sonder- meldung'	0,0—0,5	3,80±0,00	1,90±0,02	2,38±0,01	8,08±0,03
14/VIII 1967	0,5—2,0	5,53±0,01	1,20±0,06	1,00±0,01	7,73±0,06
'Baccara'	0,0	4,52±0,01	1,14±0,02	1,21±0,01	6,87±0,01
10/VII 1967	0,0—0,5	5,03±0,02	0,92±0,00	0,54±0,10	6,50±0,03
	0,5—2,0	5,20±0,01	0,51±0,00	0,32±0,01	6,04±0,01

но предполагать, что основой этого является активирование ферментативных процессов. По мнению Д. Чкатинова и др. (1966), в результате заражения происходит гидролиз полисахаридов, гликозидов и т. д. и в тканях растений накапливаются простейшие соединения. Последние являются субстратом активированному дыханию и другим процессам (Пафрадзийский, 1963; Last, 1963). Подобные процессы могут происходить и в тканях листьев роз, пораженных мучнистой росой.

В листьях роз при поражении мучнистой росой содержание сахарозы уменьшалось, что свидетельствует о гидролизе данного сахара или об оттоке его в другие ткани растений. Хотя содержание сахарозы уменьшалось, общее содержание растворимых углеводов в листьях роз при поражении мучнистой росой увеличивалось.

**2. Изменения в содержании аминокислот.** При поражении растений грибными паразитами прежде всего нарушается азотный обмен растения-хозяина (Uritani, 1965). В листьях роз, пораженных мучнистой росой, содержание свободных аминокислот уменьшается в среднем на 19%, а в пределах листа в месте поражения на 26% по сравнению с содержанием свободных аминокислот в здоровой ткани (табл. 2 и 3). Полученные данные подтверждают результаты работ И. Илиева и сотрудников, которые наблюдали уменьшение содержания свободных аминокислот в пораженных мучнистой росой листьях персика (Илиев и др., 1966). С другой стороны, содержание связанных аминокислот при поражении роз мучнистой росой имеет тенденцию увеличиваться (табл. 2).

Чтобы иметь полное представление о ходе снижения содержания свободных аминокислот в листьях роз, пораженных мучнистой росой, был

Таблица 2

Содержание аминокислот в листьях роз, пораженных мучнистой росой  
(единица денситометра на 0,01 г сырого веса)

Сорт	В здоровых листьях		В пораженных листьях	
	свободные	связанные	свободные	связанные
	аминокислоты		аминокислоты	
	20/VIII 1966	14/VIII 1966	20/VIII 1966	14/VIII 1966
'Kordes'				
Sonder- meldung'	96	1330	88	1385
'Baccara'	68	1450	44	1456

Таблица 3

Содержание свободных аминокислот в листьях роз, пораженных мучнистой росой (единица денситометра на 0,01 г сырого веса)

Сорт	Дата	0,5—2,0 см	0,0—0,5 см	0,0 см
		от пораженного места		
'Kordes' Sondermeldung'	19/VII 1967	135	139	122
	14/VIII 1967	137	84	100
	10/VI 1968	188	210	113
	10/VII 1968	130	146	125
'Baccara'	19/VII 1967	138	142	126
	10/VIII 1967	76	58	55
	10/VI 1968	183	220	91
	10/VII 1968	81	66	65

Таблица 4

Содержание свободных аминокислот в листьях роз сорта 'Kordes' Sondermeldung', пораженных мучнистой росой (16/VII 1968; мг/г сырого веса)

Вещество	0,5—2,0 см	0,0—0,5 см	0,0 см
	от пораженного места		
Аспарагиновая кислота	0,120	0,145	0,117
Глутаминовая кислота	0,141	0,254	0,090
Серин	0,170	0,272	0,072
Глицин	0,050	0,006	0,035
Аланин	0,403	0,429	0,236
Валин	0,032	0,035	0,016
Тирозин	0,090	0,059	Следы
Фенилаланин	0,371	0,555	"
Аргинин	0,429	0,632	0,089

проведен детальный анализ аминокислот; в результате оказалось, что содержание различных свободных аминокислот изменяется в процессе заболевания неодинаково (табл. 4).

По нашим данным, содержание фенилаланина и тирозина снижается настолько, что пораженные места листьев содержат только их следы. Из других нейтральных аминокислот снижается содержание серина (на 57,7% меньше, чем в здоровых тканях листа), валина (на 50,0%) и аланина (на 41,5%).

У основных аминокислот содержание аргинина снизилось до 79,5%. Сравнительный учет свободных аминокислот в пораженном листе и в здоровых тканях листьев, находившихся вокруг больного места, показал, что процесс заболевания не локален, а влияет и на обмен веществ соседних клеток.

Нарушение обмена веществ в здоровых клетках на расстоянии 0,0—0,5 см от места инфекции ведет к увеличению содержания свободных аминокислот. Содержание глутаминовой кислоты в этих клетках составляет 180% от содержания в остальных здоровых тканях листьев, содержание серина — 160, содержание фенилаланина — 150, аргинина — 149% и т. д. Содержание этих аминокислот значительно изменяется при поражении роз мучнистой росой, причем можно предполагать, что они

играют важную роль в процессе выработки защитных реакций и, может быть, даже химического барьера.

**3. Изменения в содержании антоцианов.** Известно, что углеводы и ароматические аминокислоты служат материалом для построения фенольных соединений флавоноидов. В литературе имеются данные о повышении содержания фенольных соединений, в том числе антоцианов, при заболевании растений (Tomiyama, 1963). Кроме того, имеются данные об образовании химического барьера вокруг больных клеток, в составе которого больше всего фенольных соединений — токсичных для паразита. В листьях роз, пораженных мучнистой росой, содержание антоцианов в пораженных клетках, а также в здоровых, окружающих последние, незначительно снижается, и установить существование указанного барьера не удалось (табл. 5). Из этого можно предположить, что образование химического барьера может не происходить при всех болезнях или же антоцианы в листьях роз не принимают участия в создании этого барьера.

Таблица 5

**Изменения в содержании антоцианов при поражении листьев мучнистой росой**  
(мк конго красного на 1 г сырого веса)

Сорт	Дата	Цианидин-3,5-диглюкозид		
		2,0—0,5 см	0,5—0,0 см	0,0 см
от пораженного места				
'Kordes' Sondermeldung'	20/VI 1968	16,0	14,8	11,6
	3/VII 1968	5,3	5,3	5,4
'Baccara'	29/VI 1968	3,8	3,7	3,0
	4/VII 1968	27,0	31,0	27,0

Приведенные в литературе факты позволяют считать, что антоцианы в листьях растений не могут рассматриваться как хемотропически отрицательные вещества. Значение этой группы соединений связано с их участием в биохимических процессах, индуцированных инфекцией. Хотя в литературе не имеется точных данных о том, что антоцианы распадаются под влиянием растительных ферментов, однако можно предположить, что это происходит под влиянием ферментов гриба (Harborne, 1967). Возможно, лишь в результате этих процессов возникают вещества, обладающие токсичностью для паразита, и антоцианы принимают участие в создании химического барьера в листьях растений. При мучнистой росе роз этот вопрос требует дальнейшего изучения.

### Обсуждение результатов

Анализы листьев, пораженных мучнистой росой роз, показали, что в пораженных клетках произошли большие биохимические изменения. При этом защитные реакции наблюдаются не только в пораженных клетках, но и в окружающих их здоровых.

В литературе имеется много данных о том, что в тканях растений, поврежденных облигатными паразитами, снижается активность фотосинтеза (Last, 1963), что, несомненно, оказывает влияние на общий обмен веществ.

Результаты данной работы показывают, что в листьях подопытных растений 'Kordes' Sondermeldung' и 'Baccara' в результате заболевания мучнистой росой роз увеличивается содержание сахаров в среднем на 11%. При этом надо отметить, что содержание сахаридов увеличивается

в основном за счет моносахаридов. Содержание глюкозы в листьях соответствующих сортов увеличивается в среднем на 101, а фруктозы — на 211% (табл. 1). Так как по данным литературы, активность фотосинтеза в пораженных мучнистой росой листьях снижается, логично было бы ожидать уменьшения концентрации моносахаридов, возникновение которых зависит прежде всего от фотосинтеза. Результаты опытов оказались противоположными. Содержание моносахаридов в листьях роз, пораженных мучнистой росой, увеличилось. Следовательно, увеличение содержания моносахаридов в листьях роз в результате заболевания мучнистой росой обуславливает, с одной стороны, гидролиз дисахарида (сахароза), так как содержание сахарозы в заболевших клетках уменьшилось на 27%. С другой стороны, увеличение содержания моносахаридов может обуславливать и гидролиз полисахаридов, который становится интенсивнее при вторжении облигатных паразитов в клетки растений (Гойман, 1954).

В растениях, пораженных мучнистой росой, происходит частичное разобщение фосфорилирования и дыхания, причем особое значение в дыхании пораженных клеток приобретает пентозофосфатный путь окисления (Рубин, Арциховская, 1968). В связи с этим подавляется активность цикла ди- и трикарбоновых кислот. Уменьшается и содержание свободных аминокислот, которые возникают непосредственно на базе карбоновых кислот. Так, в результате заболевания мучнистой росой в листьях роз содержание глутаминовой кислоты уменьшается на 37, а аспарагиновой — на 3%. С другой стороны, уменьшается и содержание тех аминокислот, которые непосредственно возникают при фотосинтезе (содержание глицина уменьшается на 30% и т. д.; табл. 4). Содержание свободных аминокислот в поврежденных мучнистой росой листьях роз может уменьшаться и за счет использованных грибом аминокислот или же в результате оттока этих веществ в другие части листа.

Если содержание аминокислот в поврежденных клетках листьев роз уменьшается, то в окружающих их здоровых клетках оно увеличивается по сравнению с содержанием аминокислот в совершенно здоровых клетках. Например, в здоровых клетках, окружающих больные, содержание глутаминовой кислоты увеличилось на 80, серина — на 60, фенилаланина — на 50% и т. д. (табл. 4).

Эти данные свидетельствуют о биохимических изменениях, происходящих в пораженных листьях роз. Имеют ли эти изменения характер плазматической защитной реакции или это просто нормальный результат заболеваний — окончательно еще не выяснено, и поэтому необходимо дальнейшее исследование.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Гойман Э., 1954. Инфекционные болезни растений. М.
- Илиев И., Алексиев Д., Джилянков Л., 1966. Изменения на някой физиологически и биохимически процеси при нападнати от братниста мана (*Sphaerotheca pannosa* (Wallroth) Leveille var. *persicae* Woronichin) прасковени растения. II. Биохимични изменения. Градин и лозарска науки **3** (6) : 711—714.
- Колесников П. А., Зорэ О. В., 1962. Качественные изменения фенольного состава колеоптилей пшеницы при ингибировании их роста светом. Физиол. растений (9) : 43—44.
- Нилова В. П., Степанова Н. Г., 1958. О влиянии бурой ржавчины на обмен веществ пшеницы. Тр. Всес. ин-та защиты раст. **13** : 185—192.
- Новикова В. А., 1937. Нарушение биохимического обмена в листьях люцерны при поражении ржавчиной (*Uromyces striatus* Schröt.). Докл. АН СССР **15** (5) : 53—56.
- Павлинова О. А., 1962. Количественное определение сахаров в растительном материале с применением хроматографии на бумаге. В сб.: Методика количественной бумажной хроматографии сахаров, органических кислот и аминокислот у растений. М.—Л. : 5—7.

- Пафраджийский И., 1963. Върху някой физиологични и биохимични изменения в болните от братниста мана (*Sph. fuliginea* Poll.) краставици и тиввени растения. Научни тр. Вист. селскостоп. ин-т. В. Коларов, Пловдив **12** (2) : 222—231.
- Рубин Б. А., Арциховская Е. В., 1968. Биохимия и физиология иммунитета растений. М.
- Успенская И. В., Кретович В. Л., 1962. Количественное определение аминокислот при помощи хроматографии на бумаге. В сб.: Методика количественной бумажной хроматографии сахаров, органических кислот и аминокислот у растений. М.—Л. : 43—59.
- Хайс И. М., Мацек К., 1962. Хроматография на бумаге. М.
- Чкатиннов Д. И., Шабанова А. М., Тарабрин Г. А., Соломатин Д. А., 1966. Биохимические факторы устойчивости пшеницы к стеблевой ржавчине. В сб.: Итоги работы по иммунитету с.-х. раст. ч. 3. Кишинев : 49—53.
- Bate-Smith E. C., 1962. The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. *J. Linnean Soc. London (Bot.)* **58** (37).
- Frič F., 1964. Studien über die physiologischen Beziehungen zwischen dem Wirt und dem obligaten Parasiten *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* Marchal. *Phytopath. Z.* **51** (2) : 101—117.
- Harborne J. B., 1967. Comparative biochemistry of flavonoids. London—New York.
- Last F. T., 1963. Metabolism of barley leaves inoculated with *Erysiphe graminis* Merat. *Ann. Bot.* **27** (108) : 685—690.
- Margna U., 1965. Antotsüaanpigmentatsiooni kui uue tunnuse iseloomust pookimise teel saadud rooskapsa vormil. ENSV TA Toimet., *Biol. Seeria* **14** (4) : 451—461.
- Pozsak B. I., Kristev K., Kiraly Z., 1966. Rust resistance induced by amino acids a decrease of the enhanced protein synthesis in rust infected bean leaves. *Acta phytopath. Acad. scient. hung.* **1** (3—4) : 203—208.
- Tomiyama K., 1963. Physiology and biochemistry of disease resistance of plants. *Annual Rev. Phytopath.* **53** (1) : 295—334.
- Uritani I., 1965. Molecular pathology in the plant field with special regard to defence action of the host. In: *Biochemische Probleme der kranken Pflanze*. Berlin: 201—219.

Таллинский ботанический сад  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
20/XI 1970

MALLE MANDRE

## MÕNEDEST PLASTILISTE AINETE METABOLISMI ISEÄRASUSTEST JAHUKASTEST KAHJUSTATUD ROOSILEHTEDES

Resümee

Artiklis antakse ülevaade mõnest biokeemilistest muutustest, mis toimuvad roosi-  
lehtede haigestumisel jahukastesse. Olulisi muutusi täheldati süsivesikute ainevahetuses:  
haigestunud lehtedes suurenes glükoosi ja fruktoosi, vähenes aga sahharoosi hulk. Mono-  
sahhariidide hulga suurenemine on seletatav disahhariidi hüdroolüüsi intensiivistumisega.

Jahukastest kahjustatud kudedes vähenes vabade, eriti aromaatsete aminohapele  
hulk. Arvatavasti kasutatakse vabad aminohapped ära kas parasiidi ainevahetusprotses-  
sides või toimub nende äravool haigestunud rakkudest tervetesse.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Tallinna Botaanikaaed

Toimetusse saabunud  
20. XI 1970

MALLE MANDRE

## SOME PECULIARITIES IN THE METABOLISM OF PLASTIC SUBSTANCES IN THE LEAVES OF ROSES INFECTED BY POWDERY MILDEW

Summary

The present paper contains data on biochemical changes in the leaves of roses  
infected by powdery mildew. It was found that in the infected leaves the content of  
glycose and fructose increased, whereas the content of sucrose decreased.

On the grounds of the data obtained it was concluded that the decrease of free amino  
acids in the infected leaves is probably caused by parasite in its processes of metabolism  
or by discharge of amino acids into the healthy tissues of leaves.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,  
Botanical Garden of Tallinn

Received  
Nov. 20, 1970