

# ОТВЕТНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО НА ЗАРАЖЕНИЕ АНТРАКНОЗОМ

Т. В. ЯГОВЕНКО, кандидат биологических наук,  
С. А. ПИГАРЕВА  
Л. В. ТРОШИНА  
ВНИИ люпина  
E-mail: lupin\_mail@mail.ru

*Показан характер изменений ряда биохимических показателей в разных по устойчивости к антракнозу генотипах люпина узколистного. Установлено, что одним из ответов растения при заражении на ранних этапах онтогенеза является повышение активности пероксидазы и биосинтеза лигнина.*

**Ключевые слова:** люпин узколистный, антракноз, пероксидаза, лигнин.

Защита растений люпина от антракноза должна опираться на знания биохимических и физиологических основ взаимодействия возбудителя антракноза гриба *Colletotrichum lupini* и растения. Публикации, посвященные таким исследованиям, исчисляются единицами. Большая часть встречающейся информации носит общий характер и относится к молекулярным механизмам взаимодействия патогенов и растений. Ответ растения на внедрение патогена зависит от включения «защитных генов», которые обеспечивают ответную физиологическую реакцию [1, 2].

Несмотря на обилие экспериментальных данных, касающихся защитной роли пероксидаз, лигнина при патогенезе, преобладающая часть из них [3, 4, 5] получена при изучении патосистем «пшеница — ржавчинные грибы», «злаки — мучнистые грибы», «картофель — фитотфтора» и другие. Роль данных соединений в патосистеме «люпин — антракноз» практически не определялась.

В связи с этим, целью исследований стало определение характера изменений активности пероксидаз и лигнина в растениях люпина, различающихся по устойчивости к антракнозу

**Методика исследований.** Объектами служили сорта узколистного люпина селекции ВНИИ люпина — Снежень, Белозерный 110 и сорта австралийской селекции — Каля, Танджил. Растения выращивали в горшочках на почвенном грунте, в условиях искусственного освещения, по 15 растений в горшке, повторность четырехкратная. Интенсивность освещения на стеллаже под осветительными лампами — 7000 люкс, период освещения 14 часов, температура 23–25°C. Культуру возбудителя антракноза получали на картофельно-декстрозном агаре [6].

Опытные 14-ти дневные растения заражались водной суспензией спор *C. lupini* с титром  $1 \times 10^5$  спор/мл. Контрольные — опрыскивались дистиллированной водой. Сразу после обработки растения накрывались полиэтиленовыми мешочками (на 7 дней — до первого учета поражения болезнью) для создания влажных условий. Через 24, 36, 48 часов после инфицирования отбирались листья для определения активности пероксидазы. На 14-е сутки после заражения определяли содержание лигнина в целом растении. Учет больных растений проводился на 14 сутки после инфицирования путем подсчета количества пораженных растений.

Экстракцию пероксидаз осуществляли на холоду 0,1М фосфатным буфером pH 6,4. Активность фермента определяли по Бояркину. Содержание лигнина — по общепринятой методике [7].

**Результаты исследований.** Проведенные эксперименты показали, что генотипы различались по скорости распространения инфекции. Через 7 дней после инфицирования исследуемые сорта узколистного люпина на основании учета количества пораженных растений и дисперсионного анализа были распределены по устойчивости к антракнозу на 4 группы (а, б, в, г) (табл. 1). Через 14 дней после инфицирования определилось только 2 группы (а, б), причем сорта Белозерный 110, Танджил, Каля вошли в одну группу, сорт Снежень в другую. Учет поражения растений антракнозом показал, что для сорта Каля была характерна наименьшая скорость распространения инфекции — 4,0% за 7 суток. Наибольшим этот показатель был у сорта Снежень — 12,3% и близким у сортов Танджил и Белозерный 110 — 8,3 и 9,6% соответственно. Следует отметить, что коэффициент вариации показателя «количество пораженных растений» для растений сорта Танджил был достаточно высоким 18,8 и 19,1% (через 7 и 14 суток), что свидетельствует о нестабильности изучаемого показателя в условиях данного эксперимента.

Различия сортов по исходному уровню пероксидазной активности были незначительными. Большие значения этого показателя отмечались у австралийских сортов. Но уже через 24 часа (табл. 2) после заражения пероксидазная активность в листьях люпина по отношению к контролю повышалась. У сорта Белозерный 110 — на 42,0%, Снежень — на 38,0%, Танджил — на 60,0%, Каля — на 65,0%. По прошествии 48 часов разница пероксидазной активности, согласно выше представленному ряду сортов, составляла: 44,7%, 44,4%, 85,1%, 82,6%. Через 72 часа в листьях сорта Белозерный 110 активность пероксидазы по отношению к контролю составляла уже 33,3%. У сорта Снежень она продолжала нарастать и изменение достигало 62,5%. К этому времени у сортов Танджил и Каля разница между активностью фермента в здоровых и инфицированных листьях снизилась до 46,0 и 44,9% соответственно и была практически равной.

Следует отметить, что у последних наблюдалось более интенсивное повышение активности фермента по истечении 48 часов, в последующем активность

по отношению к контролю значительно снижалась. Возможно, это свидетельство того, что растения более устойчивых сортов Танджил и Каля преодолевали воздействие патогена и возвращались к исходному биохимическому балансу. У сорта Белозерный 110 наблюдалась аналогичная картина, но через 48 часов изменение активности пероксидазы было в среднем в 2 раза ниже, чем у сортов Танджил и Каля. У сорта Снежеть активность фермента в этот временной промежуток возрастала. Возможно, это связано с тем, что растения этого сорта не справлялись с инфекционной нагрузкой.

К числу важнейших защитных биохимических процессов, проявляющихся как при механических повреждениях тканей растения, так и при развитии ответных реакций на внедрение патогена относят лигнификацию [8]. Наши исследования показали, что инфицирование увеличивало интенсивность биосинтеза лигнина в растениях изучаемых сортов. У сорта Белозерный 110 — на 37,0%, у сорта Танджил — на 35,9%, у сорта Каля — на 35,5%, у сорта Снежеть — только на 14,9% (табл. 3).

Таким образом, сорта, более устойчивые к антракнозу (в условиях данного эксперимента), характеризовались повышенной скоростью биосинтеза лигнина при инфицировании.

Корреляционный анализ выявил отрицательную связь между скоростью лигнификации растений люпина узколистного при инфицировании и поражением их антракнозом ( $r = -0,88$ ).

**Заключение.** Результаты наших исследований свидетельствуют, что исследуемые генотипы были дифференцированы по степени и характеру ответной биохимической реакции на инфицирование возбудителем антракноза. К первичной реакции люпина узколистного на инфицирование в ранний период онтогенеза следует отнести повышение пероксидазной активности, а также усиление биосинтеза лигнина.

### Литература

1. Дьяков Ю. Т. Молекулярные и генетические механизмы взаимодействия фитопатогенных грибов с растениями / Сб. науч. тр. — Пушино, 1998, С. 109–115.
2. Аксенов В. А., Воронков Л. А., Гришкова В. П. / Анализ структурных и функциональных особенностей клеточных мембран инфицированных растений в связи с их устойчивостью к фитопатогенам / Сб. науч. тр. Молекулярные и генетические механизмы взаимодействия микроорганизмов с растениями. — Пушино, 1989 г., С. 126 — 130.
3. M. Rybus-Zajac and M. Kozłowska. Peroxidase involvement in response of lupin to *Pleiochaeta Setosa*. The Polish Phytopathological Society, Poznań, 2003, P. 69–77.
4. Запрометов М. Н. О функциональной роли фенольных соединений в растениях / Физиология растений. 1992. Т. 39. В. 6. С. 1197.
5. Аверьянов А. А. Активные формы кислорода и иммунитет растений / Успехи современной биологии 1991. Т. 111. С. 722–737.
6. Гешеле Э. Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений // М. Колос. 1979. 214 с.
7. Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений / Л. Агропромиздат. 1987. 456 с.
8. Ярулина Л. Г. Механизмы индуцирования устойчивости пшеницы к грибным патогенам / Автореф. докт. дис. Уфа, 2006, 48 с.

### 1. Количество пораженных антракнозом растений узколистного люпина(%)

Образец	Через 7 суток	Через 14 суток
Снежеть	84,3 (а)	96,6(а)
Белозерный 110	50,9 (б)	60,5(б)
Каля	48,4 (бс)	52,4 (б)
Танджил	38,2 (с)	52,4(б)
НСР <sub>05</sub>	11,6	13,9

### 2. Активность пероксидазы в растениях узколистного люпина при инфицировании их *Colletotrichum lupine* (усл. ед./г СВ)

Образец	Вариант	24 часа после инфицирования	48 часов после инфицирования	72 часа после инфицирования
		листья	листья	листья
Белозерный 110	Контроль	0,38	0,48	0,51
	Инфицир.	0,54	0,69	0,68
Снежеть	Контроль	0,34	0,36	0,40
	Инфицир.	0,47	0,52	0,65
Танджил	Контроль	0,43	0,54	0,71
	Инфицир.	0,69	1,00	1,04
Каля	Контроль	0,43	0,52	0,69
	Инфицир.	0,71	0,95	1,00

### 3. Содержание лигнина в здоровых и инфицированных спорами возбудителя антракноза растениях люпина узколистного

Образец	Вариант	Содержание, %	Изменение по отношению к контролю, %
Снежеть	Контроль	7,38	
	Инфицир.	8,48	+1,10
Белозерный 110	Контроль	8,00	
	Инфицир.	10,96	+2,96
Каля	Контроль	8,80	
	Инфицир.	12,02	+3,22
Танджил	Контроль	8,74	
	Инфицир.	11,88	3,14

### Response biochemical reactions of narrow-leaved lupine to anthracnose infection

T. V. Yagovenko, S. A. Pigareva, L. V. Troshina

The article shows the pattern of changes for a number of biochemical characters in different narrow-leaved lupine genotypes from the anthracnose resistance point of view. It is discovered that peroxidase activity and lignin biosynthesis increase are some of the plant's reactions to infection at early ontogenesis stages.

**Key words:** narrow-leaved lupine, anthracnose, peroxidase, lignin.