

ВЛИЯНИЕ ИММУНОИНДУКТОРОВ НА ПЕРОКСИДАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИСТЬЕВ ПЕРСИКА КАК МЕХАНИЗМ УСТОЙЧИВОСТИ К КУРЧАВОСТИ ЛИСТЬЕВ

Тришевская В.А., Белоус О.Г., Карпун Н.Н., Михайлова Е.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр
Российской академии наук»,
г. Сочи, Россия; e-mail: nkolem@mail.ru; oksana191962@mail.ru*

В работе приведены результаты влияния препаратов иммуноиндукторного действия Зеребра Агро, Биосил и Альбит на активность ферментов антиоксидантной системы в листьях персика и степень развития курчавости листьев. Степень индуцирующего эффекта препаратов в отношении курчавости отличалась в зависимости от степени развития фитопатогена. Характер ответной реакции фермента пероксидазы на воздействие изучаемых препаратов зависит от погодных условий и применяемых иммуноиндукторов. При воздействии Альбита с фунгицидами (Эталон 1) отмечалось более выраженное снижение развития курчавости (5,3–6,4 % в 2020 г. и 14,2–22,4 % в 2021 г. по сравнению с производственной обработкой (5,8–8,6 % и 18,0–24,0 %, соответственно). Применение препарата Зеребра Агро показало высокую биологическую эффективность как в чистом виде, так и в баковой смеси с фунгицидами. Максимальная степень развития заболевания сопровождалась минимальным значением ГПО ($r = -0,63$). Применение иммуноиндукторов приводит к повышению активности гваяколпероксидазы и, как следствие, существенному подавлению развития болезни (НСР₀₅ в пределах 0,8–2,9). Таким образом, одним из механизмов эффективного действия иммуноиндукторов в защите персика от курчавости является повышение активности гваяколпероксидазы.

Ключевые слова: персик, курчавость листьев, иммуноиндукторы, гваяколпероксидаза, фитопатоген, механизмы устойчивости.

Согласно современным исследованиям, определяющая роль в формировании механизмов устойчивости растений на воздействие фитопатогенов принадлежит ферментам антиоксидантной системы защиты [8, 9]. Одним из последствий стрессового воздействия является образование активных форм кислорода. Результатом этого процесса, как механизм защиты тканей растений от активных форм кислорода при стрессовых воздействиях, происходит повышение активности фермента пероксидаза [1, 13, 17]. Этот фермент отвечает за удаление из

растительного организма токсичной для него перекиси водорода. При изучении препаратов-иммуноиндукторов в системах защиты растений важным аспектом являются значения показателей активности ферментов антиоксидантной системы в качестве маркеров интенсивности их влияния на процессы индукции и регуляции иммунитета [2, 12, 16]. При этом, как установлено рядом исследователей, на состояние ферментативных процессов существенное влияние оказывают и неблагоприятные погодные условия [18, 19].

Применение иммуноиндукторов в агроценозах плодовых культур повышает болезнеустойчивость культур к широкому кругу фитопатогенов [7, 11, 15]. Ценным свойством таких препаратов является их способность сенсibilизировать растение к последующим заражениям так, что оно защищается более быстро и эффективно. Запуск в растении механизмов усиления устойчивости определяет уровень их ответных реакций. Это событие запоминается в эпигенетическом программировании, что обуславливает быструю ответную реакцию растения, когда воздействие повторяется [20, 21, 22].

В связи с тем, что в условиях влажных субтропиков России возделывание персика сталкивается с серьёзной проблемой эпифитотийного развития курчавости листьев, возбудителем которой является аскомицет *Taphrina deformans* (Berk.) Tul., мы **поставили задачу** определить уровень активности гваяколпероксидазы в ответ на применение индукторов иммунитета растений в системах защиты персика от курчавости листьев.

Объекты и методы исследований. Полевой опыт было заложен в 2020–2021 гг. в полновозрастных насаждениях персика сорта ‘Red Haven’ на базе опытно-технологического отдела Федерального исследовательского центра «Субтропический научный центр Российской академии наук» (ФИЦ СНЦ РАН, г. Сочи). Закладка опыта осуществлялась на фоне однократной обработки 3%-ной бордоской смесью в фазу набухания почек (в 2020 г. во II декаде марта; в 2021 г. в III декаде марта). Первую обработку проводили через 30–40 дней после фоновой обработки в зависимости от фенофазы развития персика. Оценка интенсивности развития курчавости персика проводилась в соответствии с методическими указаниями по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве [3].

Схема эксперимента:

Контроль – обработка водой (без фунгицидов и изучаемых препаратов);

Эталон 1 – Альбит, ТПС 250 мл/га (д.в. полибетагидроксимасляная кислота) с половинными нормами расхода фунгицидов: Делан, ВГ (д.в. дитианон), 0,35 кг/га – 1 обработка, Скор, КЭ (д.в. дифеноконазол), 0,1 л/га – 2 обработки;

Эталон 2 (производственная обработка) – Делан, ВГ, 0,7 кг/га – 1 обработка, Скор, КЭ, 0,2 л/га – 2 обработки;

Зеребра Агро, ВР (д.в. коллоидное серебро + полигексаметиленбигуанид гидрохлорида), 150 мл/га с половинными нормами расхода фунгицидов: Делан, ВГ, 0,35 кг/га – 1 обработка, Скор, КЭ 0,1, л/га – 2 обработки;

Биосил, ВЭ (д.в. тритерпеновые кислоты), 100 мл/га, с половинными нормами расхода фунгицидов: Делан, ВГ, 0,35 кг/га – 1 обработка, Скор, КЭ, 0,1 л/га – 2 обработки;

Зеребра Агро, ВР, 150 мл/га, без фунгицидов – 3 обработки.

Биосил, ВЭ, 100 мл/га, без фунгицидов – 3 обработки.

Все обработки проводились в аналогичные сроки на одних и тех же деревьях в течение двух лет. Диагностика развития заболевания проводилась через 7 суток после каждой обработки персика.

Активность гваяколпероксидазы (ГПО) определяли спектрофотометрическим методом с учётом скорости утилизации пероксида водорода в реакционной смеси, в которую вносится растительный материал [8]. Об интенсивности утилизации пероксида водорода судили по скорости снижения экстинкции при длине волны 440 нм против фосфатного буфера (рН 6,7).

Анализ метеоусловий вегетационного периода и периода исследований 2020–2021 гг. вели по данным www.pogodaklimat.ru.

Для оценки статистических величин проведён анализ с применением пакета ANOVA в STATGRAPHICS Centurion XV (версия 15.1.02, StatPoint Technologies) и MS Excel 2007. Статистический анализ включал одномерный дисперсионный анализ (метод сравнения средних с использованием дисперсионного анализа, t-критерий). Статистически значимой принята значимость различия между средними значениями при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Погодные условия периода проведения эксперимента приведены в таблице 1, из которой следует, что по температурному фактору март 2021 г. был более прохладным, в дальнейшем период с апреля по июль мало отличался в годы наблюдений. Однако в начало вегетации в основном во второй и третьей декаде марта 2021 г., осадков выпало в четыре раза больше, чем в марте 2020 г. и более дождливым был июль 2021 г. По влажности воздуха периоды исследований в оба года наблюдений мало отличались, в среднем этот показатель колебался от 78,2 до 80,5 % (табл. 1).

В первый год эксперимента в контрольном варианте опыта наблюдалась умеренная степень развития курчавости листьев персика, что можно объяснить менее дождливым периодом вегетации 2020 г.

(табл. 2). Установлено, что применение иммуноиндукторов приводит к существенному подавлению развития болезни ($НСП_{05}$ в пределах 0,8–2,9). Причём более выраженное влияние используемых препаратов наблюдается в 2020 г., который характеризовался более тёплой и менее дождливой погодой (табл. 1).

Таблица 1

**Погодные условия
периода проведения эксперимента, 2020–2021 гг.**

Показатели	Месяцы и декады														
	2020 год														
	март			апрель			май			июнь			июль		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Температура воздуха, °C	14,8	8,9	11,0	11,0	11,6	11,8	14,6	17,8	16,9	21,3	23,2	23,8	26,2	24,2	25,1
Осадки, мм	15,4	31,2	16,0	0,2	19,2	8,0	55,8	0,0	43,4	5,2	1,5	18,0	32,0	43,0	9,4
Влажность воздуха, %	87,9	85,7	81,2	83,1	75,4	69,9	76,3	75,4	85,0	77,3	79,2	75,4	73,3	71,7	76,5
Показатели	2021 год														
	март			апрель			май			июнь			июль		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Температура воздуха, °C	5,1	8,1	7,0	11,4	12,4	13,0	15,6	17,6	17,4	16,7	20,3	23,6	23,8	25,9
Осадки, мм	31,2	65,9	82,9	55,3	61,4	30,1	66,2	57,3	50,8	127,9	9,4	2,2	91,0	0,0	68,0
Влажность воздуха, %	78,2	82,1	76,9	78,4	81,2	79,7	84,3	78,6	80,4	81,2	79,7	76,8	82,3	83,4	84,5

На второй год исследований защитное действие иммуноиндукторов было невысоким, что связано с высоким уровнем развития патогена, обусловленным погодными условиями года, а именно прохладной весной с обильными осадками и более поздней вегетацией персика по сравнению с предыдущим годом. Среди прочих выделялись варианты Альбит с фунгицидами (Эталон 1), Зеребра Агро в чистом виде и в баковой смеси с фунгицидами. Однако и их биологическая эффективность находилась в пределах 35–50 %. Препарат Биосил в 2021 г. оказывал слабое действие на развитие курчавости.

Таблица 2

**Степень развития (R, %) курчавости листьев персика
(сорт 'Red Haven', Сочи, 2020–2021 гг.)**

Варианты опыта	2020 г.			2021 г.		
	II декада апреля	II декада мая	I декада июня	I декада мая	III дека- да мая	II декада июня
Контроль (обработка водой)	19,3 ±1,8	13,6 ±0,8	10,2 ±0,5	25,0 ±1,5	36,1 ±1,3	28,0 ±1,1
Эталон 1 (Альбит + фунгициды)	5,3 ±1,0	6,4 ±1,1	6,3 ±1,5	14,3 ±1,3	22,4 ±2,2	14,2 ±2,1
Эталон 2 (Производ- ственная обработка)	8,6 ±1,3	7,1 ±0,9	5,8 ±1,3	18,0 ±1,2	24,0 ±1,9	19,0 ±1,0
Зеребра Агро, ВР + фунгициды	3,8 ±1,0	5,2 ±0,8	6,0 ±1,5	16,3 ±1,2	21,0 ±1,7	18,2 ±1,5
Зеребра Агро, ВР (без фунгицидов)	7,6 ±1,2	6,5 ±0,5	6,7 ±0,8	19,1 ±1,2	25,0 ±1,7	20,0 ±1,2
Биосил, ВЭ + фунгициды	6,8 ±1,4	8,1 ±0,7	7,0 ±0,8	15,1 ±1,6	19,2 ±1,3	17,2 ±1,3
Биосил, ВЭ (без фунгицидов)	9,8 ±1,7	9,3 ±1,0	8,0 ±1,4	20,0 ±1,2	26,0 ±1,5	21,1 ±1,7
<i>HCP₀₅</i>	1,3	1,0	0,8	2,1	2,9	2,3

С учётом того, что включение в систему защиты персика иммуноиндукторов способствовало сдерживанию развития курчавости, нами были проведены исследования по выявлению механизма, обеспечивающего этот процесс. Одной из важнейших каталитических систем среди биотических факторов защиты растений от патогенных микроорганизмов считается фермент пероксидаза (Тарчевский, 2000). В результате было установлено, что восстановление активности гваяколпероксидазы (ГПО), вызванное стимулирующим действием иммуноиндукторов, сопровождается повышением устойчивости персика к биотрофному патогену *T. deformans* (табл. 3).

Анализ данных, размещённых в таблице 3 показал, что в первый год эксперимента после третьей обработки на вариантах с применением производственной обработки и на варианте Биосил с фунгицидами (варианты, имевшие наименьшую биологическую эффективность) отмечено существенное снижение пероксидазной активности. Такое же явление выявлено и на второй год эксперимента после первой обработки практически на всех вариантах опыта и после второй при обработках Зеребра Агро (в чистом виде и в баковой смеси) и Биосилом в чистом виде. При этом максимальная степень развития заболевания сопровождалась

минимальным значением ГПО (рис. 1), на всех вариантах опыта применение иммуноиндукторов повышало активность фермента ($r = -0,63$) и, как следствие, снижало степень поражения листьев *T. deformans*.

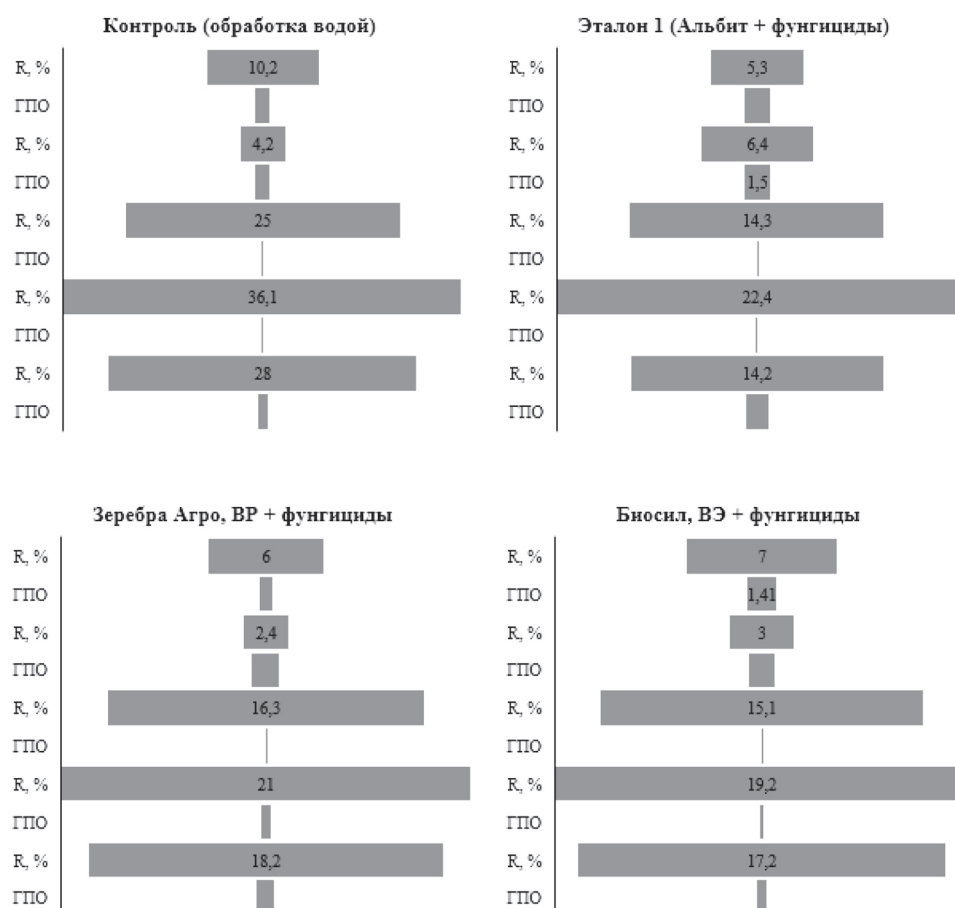


Рис. 1. Взаимосвязь развития курчавости листьев и активности гваяколпероксидазы (на примере 4-х вариантов опыта)

Коэффициент корреляции подтверждает обратную взаимосвязь динамики активности фермента с уровнем развития *T. deformans*. Установленные нами закономерности подтверждаются и результатами исследований, проведёнными ранее на других культурах, которые показали, что наименьшее значение активности окислительных ферментов соответствовало максимальной степени поражения листьев [2, 6, 8, 18].

**Уровень активности гваяколпероксидазы
(ГПО, усл.ед./гс) листьев персика при применении
иммуноиндукторов (сорт 'Red Haven', Сочи, 2020–2021 г.)**

Варианты опыта	2020 г.				2021 г.					
	I декада июня		III декада июня		I декада мая		III декада мая		II декада июня	
	R*, %	ГПО	R*, %	ГПО	R*, %	ГПО	R*, %	ГПО	R*, %	ГПО
Контроль (обработка водой)	10,2	1,49 ±0,07	4,2	1,50 ±0,22	25,0	0,26 ±0,20	36,1	0,33 ±0,08	28,0	1,02 ±0,09
Эталон 1 (Альбит + фунгициды)	5,3	1,55 ±0,22	6,4	1,50 ±0,22	14,3	0,15 ±0,00	22,4	0,19 ±0,03	14,2	1,39 ±0,30
Эталон 2 (Производственная обработка)	5,8	1,50 ±0,02	2,0	1,37 ±0,19	18,0	0,17 ±0,09	24,0	0,32 ±0,21	19,0	0,86 ±0,11
Зеребра Агро, ВР + фунгициды	6,0	0,79 ±0,14	2,4	1,49 ±0,10	16,3	0,13 ±0,01	21,0	0,57 ±0,07	18,2	0,98 ±0,01
Зеребра Агро, ВР (без фунгицидов)	6,7	1,33 ±0,16	3,4	1,53 ±0,21	19,1	0,07 ±0,03	25,0	0,67 ±0,13	20,0	0,69 ±0,05
Биосил, ВЭ + фунгициды	7,0	1,41 ±0,10	3,0	1,25 ±0,35	15,1	0,10 ±0,0	19,2	0,22 ±0,13	17,2	0,52 ±0,02
Биосил, ВЭ (без фунгицидов)	8,0	0,53 ±0,09	3,8	0,53 ±0,03	20,0	0,0	26,0	0,83 ±0,05	21,1	0,54 ±0,04
<i>HCP₀₅</i>	–	0,25	–	0,10	–	0,02	–	0,06	–	0,12
Корреляция между R и ГПО	–0,63									

Примечание: * – R – интенсивность развития курчавости листьев

Закключение. Таким образом, установлено, что одним из механизмов эффективного действия иммуноиндукторов в защите персика от курчавости является повышение активности гваяколпероксидазы. Данное явление может быть связано с непосредственным влиянием действующих веществ препаратов-иммуноиндукторов на активность ферментов, снижающих количество свободных радикалов и, как следствие, смягчающих их стрессовое воздействие [14]. В дальнейших исследованиях нами поставлена задача выяснить роль иных физиолого-биохимических механизмов, которые влияют на подавление развития курчавости, а также оценить возможность их регуляции путём применения иммуноиндукторов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке
РФФИ и администрации Краснодарского края
в рамках научного проекта № 20-416-235004 р_

Библиографический список

1. Гесслер Н.Н., Аверьянов А.А., Белозерская Т.А. Активные формы кислорода в регуляции развития грибов // Биохимия. – 2007. – № 72(10). – С. 1342-1364. – ISSN 0320-9725.
2. Граскова И.А., Боровский Г.Б., Колисниченко А.В., Войников В.К. Peroксидаза как компонент сигнальной системы клеток картофеля при патогенезе кольцевой гнили // Физиология растений. – 2004. – Т. 51. – № 5. – С. 692-697. – ISSN 0015-3303.
3. Долженко В.И. Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве. – СПб: ВНИИ защиты растений РАСХН, 2009. – 379 с.
4. Карпун Н.Н., Михайлова Е.В., Янушевская Э.Б., Пантия Г.Г. Эффективность применения индукторов устойчивости персика в борьбе с курчавостью // Садоводство и виноградарство. – 2016. – № 3. – С. 41-47. – <https://doi.org/10.18454/VSTISP.2016.3.1926>.
5. Карпун Н.Н., Пантия Г.Г., Михайлова Е.В., Янушевская Э.Б. Значение иммуностимуляторов в борьбе с курчавостью персика субтропической зоне Черноморского побережья // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2015. – Вып. 55. – С. 152-158. – ISSN 2225-3068.
6. Колупаев Ю.Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. – 2007. – № 3. – С. 6-26. – http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vkhnaui_biol_2007_3_3.
7. Креславский В.Д., Лось Д.А. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. – 2012. – Т. 59. – № 2. – С. 163-178. – ISSN 0015-3303.
8. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб: БХВ-Петербург, 2012. – 512 с.
9. Методы биохимического исследования растений // под ред. д-ра биол. наук А.И. Ермакова. – Л.: Колос, 1972. – 456 с.
10. Михайлова Е.В. Повышение неспецифической устойчивости персика (*Prunus persica* (L.) Vatsch) к фитопатогенам при применении иммуноиндукторов: дисс. ... канд. биол. наук. – М., – 2017. – 130 с.
11. Михайлова Е.В., Янушевская Э.Б., Карпун Н.Н. Состояние ключевых ферментов антиоксидантной системы защиты в листьях персика при воздействии иммуноиндукторов // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2018. – Вып. 65. – С. 167-173. – ISSN 2225-3068.
12. Радюкина Н.Л., Иванов Ю.В., Шевякова Н.И. Методы оценки содержания активных форм кислорода, низкомолекулярных антиоксидантов и активностей основных антиоксидантных ферментов // Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2015. – 498 с. – ISBN 978-5-9963-2659-4.
13. Рябчинская Т.А., Харченко Г.Л., Саранцева Н.А., Бобрешова И.Ю., Злотников А.К. Биохимические и физиологические предикторы индуцированного иммунитета при обработке растений иммуноиндукторами группы Альбит // Вестник защиты растений. – 2008. – № 2. – С. 34-41. – ISSN 1727-1320.
14. Соколов Ю.А. Элиситоры и их применение // Известия национальной академии наук Беларуси. – 2014. – № 4. – С. 109-121. – ISSN 1561-8331.
15. Тарчевский И.А. Элиситор-индуцируемые сигнальные системы и их взаимодействие // Физиология растений. – 2000. – № 47(2). – С. 321-331.

16. Тютюрев С.Л. Научные основы индуцированной устойчивости растений. – СПб.: ВНИИ защиты растений РАСХН, 2002. – 328 с.
17. Успенская Г.Д., Дьяков Ю.Т., Семенкова И.Г. Общая фитопатология с основами иммунитета. – М.: Колос, 1967. – 239 с.
18. Хорошева Т.М., Сулова Т.А., Норицина М.В., Лысова Л.А. Применение биологически активных веществ в качестве индукторов устойчивости томатов к болезням // Защита растений от вредителей и болезней: сб. тр. – Саратов: 1996. – С. 70-76.
19. Barna B., Adam A.L., Gullner G., Kiraly Z. Role of antioxidant systems and juvenility in tolerance of plants to diseases and abiotic stresses // Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica. – 1995. – Vol. 30(1-2). – P. 39-45.
20. Foyer C., Lopez-Delgado H., Dat J.F., Scott I.M. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling // Physiologia Plantarum. – 2006. – Vol. 100(2). – P. 241-245. – <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb04780.x>.
21. Galvez-Valdivieso G., Mullineaux P.M. The role of reactive oxygen species in signalling from chloroplasts to the nucleus // Physiologia Plantarum. – 2010. – Vol. 138(4). – P. 430-439. – <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01331.x>.
22. Kareska S. Factors affecting hydrogen peroxidase activity // ESSAI. – 2009. – Vol. 7(27). – P. 82-85. – <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1530.0648>.
23. Thongsook T., Barrett D.M. Heat inactivation and reactivation of broccoli peroxidase // J Agric Food Chem. – 2005. – Vol. 53. – P. 3215-3222. – <https://doi.org/10.1021/jf0481610>.

THE INFLUENCE OF IMMUNOINDUCERS ON THE PEROXIDASE ACTIVITY OF PEACH LEAVES AS A RESISTANCE MECHANISM TO LEAF CURL

Trishevskaya V.A., Belous O.G., Karpun N.N., Mikhailova Ye.V.

*Federal Research Centre
the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences,
Sochi, Russia; e-mail: nkolem@mail.ru; oksana191962@mail.ru*

The paper studied an influence of preparations of an immunoinducing effect Zerebra Agro, Biosil and Albit on the enzymatic activity in the antioxidant system in peach leaves and on the development degree of leaf curl. The degree of preparations' inducing effect in relation to leaf curl differed depending on the development degree of the phytopathogen. The nature of the peroxidase enzyme's response to the effects of the studied preparations depends on weather conditions and immunoinducers used. When exposed to Albite with fungicides (Standard 1), there was a more pronounced decrease in the development of leaf curl (5.3–6.4 % in 2020 and 14.2–22.4 % in 2021 compared with industrial treatment (5.8–8.6 % and 18.0–24.0 %, respectively). Preparation Zerebra Agro has shown high biological efficacy both in pure form and in a tank mixture with fungicides. The maximum degree of the disease development was accompanied by a minimum value of guaiacol peroxidase ($r = -0.63$). The use of immunoinducers leads to an increase in the guaiacol peroxidase activity and, as a consequence, causes a significant suppression of the disease development (LSD_{05} in the range of 0.8–2.9). Thus, one of the mechanisms of the effective action of immunoinducers in peach protection from leaf curl is an increase in the guaiacol peroxidase activity.

Key words: peach, leaf curl, immunoinducers, guaiacol peroxidase, phytopathogen, resistance mechanisms.