

УДК 581.1

## **ВЛИЯНИЕ ЕЖЕСУТОЧНЫХ КРАТКОВРЕМЕННЫХ СНИЖЕНИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ ЗАРАЖЕНИЯ ФИТОПАРАЗИТИЧЕСКОЙ НЕМАТОДОЙ**

**М. И. Сысоева, В. В. Лаврова, Е. Ф. Марковская,  
Е. М. Матвеева, Е. Г. Шерудило**

*Институт биологии Карельского научного центра РАН*

На восприимчивом и устойчивом к заражению картофельной цистообразующей нематодой сортах картофеля исследовано влияние ежесуточных кратковременных снижений температуры на функциональное состояние фотосинтетического аппарата растений с использованием метода флуориметрии. Показано, что можно выделить два этапа в реакции фотосинтетического аппарата растений на заражение: первый – до трех недель, когда отсутствуют видимые нарушения фотохимических реакций, вызванные заражением, и второй – до полутора месяцев, когда эти нарушения выявляются.

**Ключевые слова:** фитопаразитическая нематода *Globodera rostochiensis* Woll., ETR, qP, NPQ, квантовый выход фотосистемы II, ДРОП – кратковременное снижение температуры.

**M. I. Sysoeva, V. V. Lavrova, E. F. Markovskaya, E. M. Matveeva,  
E. G. Sherudilo. EFFECT OF DAILY SHORT-TERM TEMPERATURE DROPS  
ON THE FUNCTIONAL CONDITION OF THE POTATO PLANT PHOTOSYNTHETIC  
APPARATUS INVASION BY PHYTOPARASITE NEMATODE**

The effect of daily short-term temperature drops on the functional condition of the plant photosynthetic apparatus was studied by fluorimetry in potato varieties susceptible and resistant to the potato cyst nematode. Two phases can be distinguished in the response of the photosynthetic apparatus to the infection: the first one – up to three weeks, when no infection-induced disturbances of photochemical reactions are visible, the second one – up to a month and a half, when such disturbances become detectable.

**Key words:** phytoparasitic nematode *Globodera rostochiensis* Woll., ETR, qP, NPQ, quantum yield of photosystem II, DROP – short-term temperature reduction.

### **Введение**

Проблема разработки нехимических подходов для снижения заражения картофеля облигатным паразитом картофельной цистообразующей нематодой (КЦН) *Globodera rostochiensis* Woll. весьма актуальна. Одним из

направлений исследований в этой области является использование температуры [Wharton, Ramlov, 1995; Andreoglou et al., 2003; van Loenen et al., 2003]. В современных технологиях выращивания растений в условиях защищенного грунта широко применяются ежесуточные крат-

ковременные снижения температуры (ДРОП-воздействие), контролирующие габитус растений [Мое, Heins, 2000], а также увеличивающие их устойчивость и урожай [Марковская и др., 2008]. В предыдущих исследованиях нами было показано, что ДРОП-воздействие снижает отрицательное действие паразита на урожай растений картофеля [Матвеева и др., 2007; Matveeva et al., 2007; Сысоева и др., 2008]. Вопрос о механизмах действия ДРОП остается открытым. Известно, что одним из первых действие низкой температуры воспринимает фотосинтетический аппарат растения и задолго до проявления видимых признаков заражения могут отмечаться изменения на уровне отдельных реакций фотосинтеза [Климов, 1987; Климов и др., 1999; Дерябин и др., 2007]. Для изучения влияния заражения на растения успешно используются различные показатели флуоресценции, позволяющие оценить направленность изменений на уровне световых реакций фотосинтеза. В частности, установлено, что скорость электронного транспорта и коэффициент фотохимического тушения перспективны для оценки устойчивости растений сорго к заражению растением-паразитом *Striga hermonthica* (Del.) Benth., вызывающим значительные потери урожая зерновых [Rodenburg et al., 2008]. При вирусном заражении растений табака [Ryslava et al., 2003] и онцидиума [Chia, 1999] отмечено снижение максимальной фотохимической активности фотосистемы II (показатель Fv/Fm). В то же время у горчицы [Guo et al., 2005] и посконника [Funayama et al., 1997] величина Fv/Fm под действием заражения не изменялась. Данные по влиянию заражения КЦН на состояние фотосинтетического аппарата растений картофеля в доступной нам литературе отсутствуют.

Целью настоящей работы является исследование с использованием метода флуориметрии влияния ДРОП-воздействия на функциональное состояние фотосинтетического аппарата растений картофеля при заражении КЦН.

## Материалы и методы

Работа выполнена на двух сортах картофеля в фазе трех листьев: сорте Невский, восприимчивом к заражению КЦН, и устойчивом сорте Сударыня. Растения каждого сорта выращивали 7 сут при температуре 23 °С и фотопериоде 12 ч, а затем в течение 6 сут подвергали ежесуточному снижению температуры до 5 °С на 2 ч в конце ночи (вариант ДРОП) или оставляли при оптимальных условиях (вариант контроль). Далее растения каждого варианта делили на две группы, одну из которых заражали КЦН

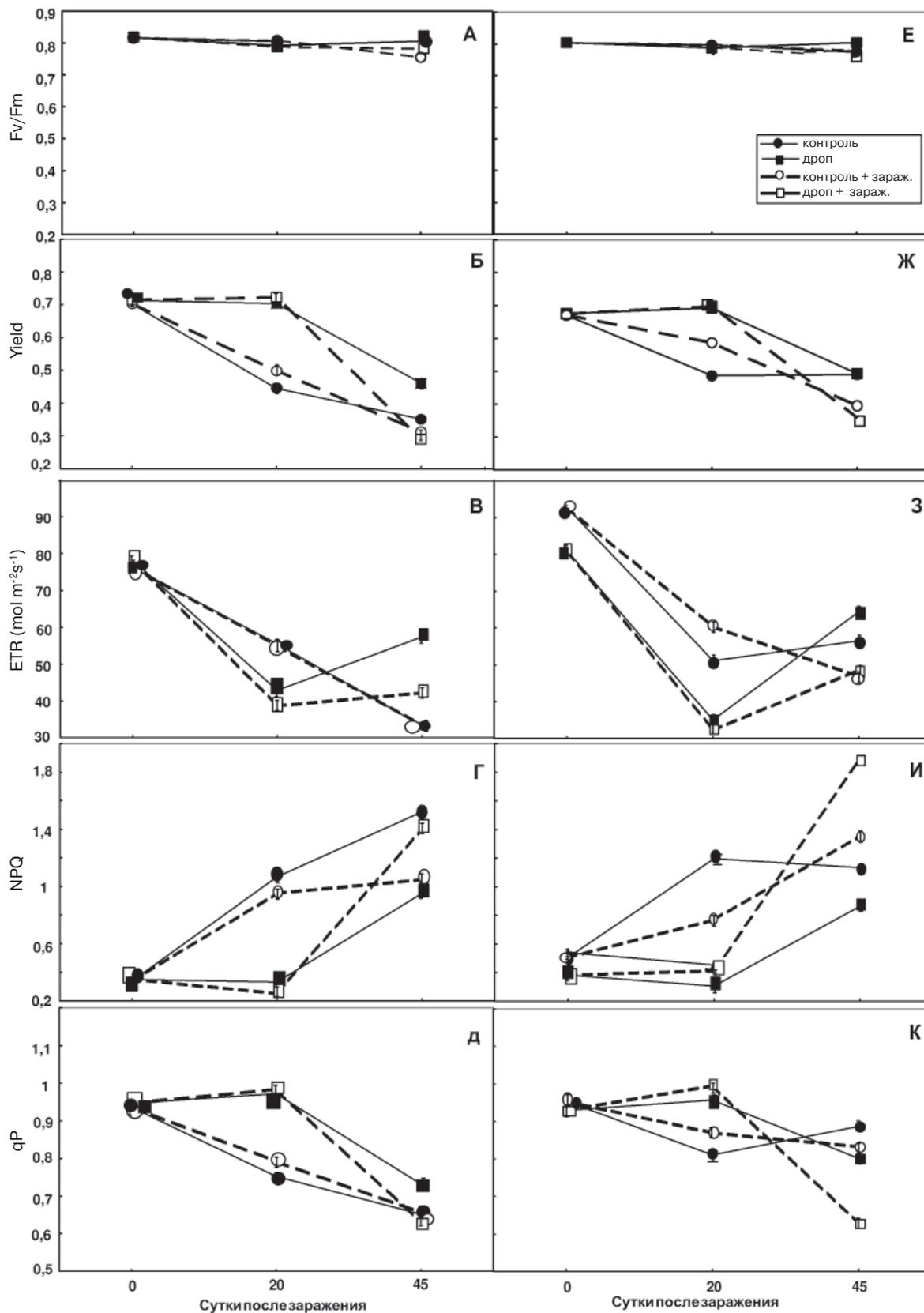
(10 цист/растение), а другую выращивали без заражения в оптимальных условиях.

Флуоресценцию хлорофилла измеряли при комнатной температуре 22 °С после адаптации листьев в темноте в течение 20 мин с помощью анализатора выхода фотосинтеза с импульсно-модульным освещением MINI-PAM (Walz, Германия). Измерения проводили сразу по завершении низкотемпературных обработок непосредственно перед заражением (0 сут), а также на 20-е и 45-е сутки после заражения. Определяли следующие показатели флуоресценции: максимальный (потенциальный) квантовый выход фотохимической активности фотосистемы II (ФСII) (Fv/Fm), эффективный (реальный) квантовый выход фотохимической активности ФСII (yield), коэффициенты фотохимического (qP) и нефотохимического (NPQ) тушения, скорость электронного транспорта (ETR). Измерения проводили в 6–8-кратной повторности. Данные обработаны статистически с использованием пакета программ Statgraphics for Windows 7.0.

## Результаты и обсуждение

По окончании низкотемпературных обработок, перед заражением показатели функционального состояния фотосинтетического аппарата растений, обработанных ДРОП, не отличались от контроля (рис.). Исключение составил показатель скорости транспорта электронов (ETR) у устойчивого сорта, значения которого в контроле были несколько выше, чем у опытных растений (рис., 3).

На 20-е сутки после заражения величина Fv/Fm у растений всех вариантов опыта и контроля сохранялась на исходном уровне, что может свидетельствовать об отсутствии стрессового состояния растительного организма (рис., А, Е). Однако разнонаправленные изменения других показателей свидетельствуют об изменении функционального состояния растений. Так, у контрольных растений обоих сортов, как зараженных, так и незараженных, отмечено снижение показателя эффективного квантового выхода ФСII (yield) (рис., Б, Ж), ETR (рис., В, З) и величины фотохимического тушения (qP) (рис., Д, К). Причем на фоне снижения фотохимической активности отмечено усиление нефотохимического тушения (NPQ) (рис., Г, И). Эти процессы по направленности изменений сходны у изученных сортов, однако более существенные количественные различия выявлены между зараженными и незараженными растениями устойчивого сорта. Как у зараженных, так и у незараженных растений, подвергнутых ДРОП-обработке, показатели yield (рис., Б, Ж) и qP (рис., Д, К) сохранялись на высоком уровне



Влияние ежесуточных кратковременных снижений температуры (ДРОП) на показатели флуоресценции хлорофилла у здоровых и зараженных картофельной цистообразующей нематодой (КЦН) растений картофеля:

А–Д – восприимчивый сорт Невский, Е–К – устойчивый сорт Сударыня

и отсутствовала активизация процессов нефотохимического тушения (рис., Г, И). Однако скорость транспорта электронов в варианте ДРОП снижалась у зараженных и у незараженных растений, составляя около 30 % от исходного уровня (рис., В, З). Различий между устойчивым и восприимчивым сортом при этом не обнаружено. Сохраняющийся к 20-м суткам заражения высокий уровень фотохимической активности в варианте ДРОП свидетельствует об отсутствии у них, в отличие от контроля, ингибирования процессов на уровне первичных реакций фотосинтеза. Предыдущие исследования показали, что в последствии ДРОП растения (огурец, капуста, злаки, декоративные виды) переходят в состояние повышенной жизнедеятельности, устойчивости и более высокой продуктивности [Sysoeva et al., 2005; Марковская и др., 2008]. Полученные результаты указывают на то, что в последствии ДРОП-обработки зараженные растения могут противостоять воздействию паразита, сохраняя высокую фотохимическую активность ассимиляционного аппарата. Однако снижение скорости транспорта электронов у этих растений свидетельствует об изменениях, связанных с перестройкой метаболизма. По-видимому, новый уровень ETR обеспечивает повышенную функциональную активность организма в условиях действия паразита. Выявляемые нами изменения в работе фотосинтетического аппарата связаны с особенностями развития паразита на эндотермальном этапе, когда проникшие в корни растений инвазионные личинки нематоды (личинки 2 возраста J2) проходят развитие до фазы «личинки 4 возраста J4». Этот период в развитии паразита характеризуется активным питанием нематоды за счет метаболитов и потреблением энергии хозяина [Матвеева и др., 1997].

Последующий этап нашего исследования (20–45-е сутки после заражения) связан с изучением состояния фотосинтетического аппарата растений картофеля на эктодермальном этапе развития паразита, характеризующемся созреванием самок, оплодотворением и образованием яиц. Молодые самки прорывают эпидермис корня, оплодотворяются самцами, полость тела их постепенно заполняется яйцами, и они отмирают [Матвеева и др., 1997]. Особенностью развития паразита в этот период является отсутствие потребности в большом количестве питательных веществ. Такое снижение метаболической зависимости нематоды сопряжено с ингибированием фотосинтетической функции растения-хозяина. Именно в этот период у незараженных и зараженных растений контрольного варианта установлено снижение

показателей yield, ETR и qP (рис., Б, В, Д) и увеличение нефотохимического тушения (рис., Г). Следует отметить, что у восприимчивого сорта Невский это снижение функциональной активности оказалось более значительным и однонаправленным (рис., А–Д), чем у устойчивого сорта Сударыня (рис., Е–К). Аналогичные закономерности изменений в реакции фотосинтетического аппарата отмечены в этот период и у растений, обработанных ДРОП. Так, показатели yield (рис., Б, Ж) и qP (рис., Д, К) снижались, а NPQ увеличивался (рис., Г, И), достигая наибольших значений у зараженных растений. Полученные данные могут свидетельствовать об ингибировании фотохимических процессов у растений к 45-м суткам заражения, как в контроле, так и при ДРОП-обработке. Однако несколько иные данные получены для скорости транспорта электронов. У растений как восприимчивого, так и устойчивого сортов, обработанных ДРОП, к 45-м суткам заражения величина ETR возрастала (рис., В, З): на 10–20 % у зараженных и на 30 % – у незараженных растений. Возможно, в последствии ДРОП, на фоне перераспределения энергии в сторону нефотохимических процессов, активизируются защитные метаболические пути, в том числе антиоксидантные системы [Полесская, 2007], препятствующие нарушениям в работе фотосинтетического аппарата растений. Это обеспечивает более эффективную защиту ассимиляционного аппарата растений от инвазии патогена, а также приводит к более высокой продуктивности растений. В полевых исследованиях ранее было показано, что к концу вегетационного периода урожай клубней у растений картофеля, обработанных ДРОП, при заражении КЦН был значительно выше, чем без обработки [Сысоева и др., 2008]. Снижение большинства исследованных показателей флуоресценции к концу эксперимента, особенно у зараженных растений обоих сортов, может быть связано и с ускорением процессов старения растительного организма.

Полученные данные позволяют выделить два этапа в реакции фотосинтетического аппарата растений картофеля, обработанных ДРОП, на заражение КЦН: первый этап (до трех недель), когда отсутствуют видимые нарушения на уровне фотохимических реакций, вызванные заражением, и второй этап (до полутора месяцев), когда эти нарушения выявляются. Впервые проведенное исследование по влиянию ежесуточных кратковременных снижений температуры на становление связей между растением-хозяином и паразитом показало, что донорно-акцепторные отношения, складывающиеся между растением и паразитом, могут

корректироваться применением ДРОП-воздействия. Так, на эндотермальном этапе развития, когда паразит потребляет большое количество метаболитов, этот процесс, по принципу обратной связи, может стимулировать фотосинтетическую функцию. Растения в последствии ДРОП-обработки характеризуются более активным функциональным состоянием [Марковская и др., 2008], обеспечивающим повышение устойчивости и увеличение накопления метаболитов. Этот повышенный метаболический уровень организма может, по-видимому, расходоваться не только на рост и развитие самого растения-хозяина, но и на потребности паразитирующего на нем организма.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-Карелия (№ 08-04-98833) и гранта Федерального агентства по образованию в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

## Литература

Дерябин А. Н., Синькевич М. С., Климов С. В. и др. Особенности  $\text{CO}_2$ -газообмена и структурной организации хлоропластов растений картофеля, трансформированных геном дрожжевой инвертазы, в условиях гипотермии // Физиология растений. 2007. Т. 54, № 4. С. 511–516.

Климов С. В. Биоэнергетические аспекты адаптации и устойчивости зимующих злаков к морозу // Усп. соврем. биологии. 1987. Т. 104. С. 251–267.

Климов С. В., Астахова Н. В., Трунова Т. И. Холодостойкость растений томата и огурца в связи с низкотемпературной активностью их фотосинтеза // Докл. АН. 1999. Т. 365. С. 279–282.

Марковская Е. Ф., Сысоева М. И., Шерудило Е. Г. Феномен ежесуточного кратковременного влияния низких закалывающих температур на жизнедеятельность растения // Онтогенез. 2008. Т. 39, № 5. С. 323–332.

Матвеева Е. М., Груздева Л. И., Евстратова Л. П. Влияние патогенов на ростовые процессы картофеля // Вестник РАСХН. 1997. № 4. С. 29–32.

Матвеева Е. М., Иешко Е. П., Сысоева М. И., Шерудило Е. Г. Температурообусловленные реакции паразито-хозяйинных отношений в системе «картофель – картофельная цистообразующая нематода» // Нематоды естественных и трансформированных экосистем. Петрозаводск: ПИН, 2007. С. 62–65.

Полесская О. Г. Растительная клетка и активные формы кислорода: Учебное пособие. М.: КДУ, 2007. 140 с.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### Сысоева Марина Ивановна

главный научный сотрудник, д. б. н.  
Институт биологии Карельского научного центра РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: sysoeva@krc.karelia.ru  
тел.: (8142) 762706

Сысоева М. И., Матвеева Е. М., Шерудило Е. Г., Марковская Е. Ф. Способ повышения устойчивости картофеля к картофельной цистообразующей нематоды // Тр. Междунар. Форума по проблемам науки, техники и образования / Под ред. В. В. Вишневого. М.: Академия наук о Земле, 2008. Т. 2. С. 72–74.

Сысоева М. И., Слободяник И. И., Шерудило Е. Г., Василевская Н. В. Влияние ежесуточных кратковременных снижений температуры на процессы органогенеза у *Cucumis sativus* L. в условиях разных фотопериодов // Известия РАН. Сер. Биологическая. 2007. № 6. С. 765–767.

Andreoglou F. I., Vagelas I. K., Wood M. et al. Influence of temperature on the motility of *Pseudomonas oryzae* and control of *Globodera rostochiensis* // Soil Biology and Biochemistry. 2003. Vol. 35, N 8. P. 1095–1101.

Chia T. F., He J. Photosynthetic capacity in *Oncidium* (*Orchidaceae*) plants after virus eradication // Environ. Exp. Bot. 1999. Vol. 42. P. 11–16.

Funayama S., Soloike K., Terashima I. Photosynthetic properties of leaves of *Eupatorium makinoi* infected by a geminivirus // Photosyn. Res. 1997. Vol. 52. P. 253–261.

Guo D. P., Guo Y. P., Zhao J. P. et al. Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in leaves of stem mustard (*Brassica juncea* var. tsatsai) after turnip mosaic virus infection // Plant Science. 2005. Vol. 168. P. 57–63.

Matveeva E. M., Ieshko E. P., Sysoeva M. I., Sherudilo E. G. Temperature-dependent reactions of host-parasite relationships in system «potato – potato cyst-forming nematode» // Russian Journal of Plant Nematology. 2007. Vol. 15, N 2. P. 172.

Moe R., Heins R. D. Thermo- and Photomorphogenesis in Plants // Advances in Floriculture Research / Ed. Strømme E. Ås: Agric. Univ., 2000. Rep. N 6. P. 52–64.

Rodenburg J., Bastiaans L., Shapendonk Ad. H. C. M. et al.  $\text{CO}_2$ -assimilation and chlorophyll fluorescence as indirect selection criteria for host tolerance against *Striga* // Euphytica. 2008. Vol. 160, N 1. P. 75–87.

Ryslava H., Muller K., Semuradova S. et al. Photosynthesis and activity of phosphoenolpyruvate carboxylase in *Nicotiana tabacum* L. leaves infected by potato virus A and potato virus Y // Photosynthetica. 2003. Vol. 41. P. 357–363.

Sysoeva M. I., Sherudilo E. G., Markovskaya E. F. et al. Temperature drop as a tool for cold tolerance increment in plants // Plant Growth Regulation. 2005. Vol. 46. P. 189–191.

van Loenen M. C. A., Turbett Y., Mullins C. E. et al. Low temperature-short duration steaming of soil kills soil-borne pathogens, nematode pests and weeds // European Journal of Plant Pathology. 2003. Vol. 109, N 9. P. 993–1002.

Wharton DA, Ramlov H. Differential scanning studies on the cysts of the potato-cyst nematode *Globodera rostochiensis* during freezing and melting // Journal of Experimental Biology. 1995. Vol. 198, N 12. P. 2512–2555.

### Sysoeva, Marina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian  
Academy of Science  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: sysoeva@krc.karelia.ru  
tel. (8142) 762706

**Лаврова Виктория Витальевна**

аспирант

Институт биологии Карельского научного центра РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910

эл. почта: vicandra@mail.ru

тел.: (8142) 762706

**Марковская Евгения Федоровна**

главный научный сотрудник, проф., д. б. н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910

эл. почта: evgenia@krc.karelia.ru

тел.: (8142) 762706

**Матвеева Елизавета Михайловна**

старший научный сотрудник, к. б. н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910

эл. почта: matveeva@krc.karelia.ru

тел.: (8142) 783622

**Шерудило Елена Георгиевна**

старший научный сотрудник, к. б. н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910

эл. почта: sherudilo@krc.karelia.ru

тел.: (8142) 762712

**Lavrova, Victoria**

PhD student

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian  
Academy of Science  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia

e-mail: vicandra@mail.ru

tel.: (8142) 762706

**Markovskaya, Eugenia**

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian  
Academy of Science

11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia

e-mail: evgenia@krc.karelia.ru

tel.: (8142) 762706

**Matveeva, Elizaveta**

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian  
Academy of Science

11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia

e-mail: matveeva@krc.karelia.ru

tel.: (8142) 783622

**Sherudilo, Elena**

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian  
Academy of Science

11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia

e-mail: sherudilo@krc.karelia.ru

tel.: (8142) 762712