

Е., Fagerstedt K.V., 2003; Shao H.B. et al., 2008). Как правило, в детоксикации АФК участвует несколько сопряженных ферментативных систем и низкомолекулярных антиоксидантов. Активация того или иного компонента защитной системы зависит не только от фактора, но и от вида, сорта и возраста растения (Климов С.В., 2008).

Накопление АФК в клетках нарушает протекание процессов транскрипции и репликации, изменяет состав липидов мембран (Allen R.G., Balin A.K., 1989), приводит к повреждению нуклеиновых кислот, белков и липидов (Imlay J.A., 2003). Супероксидные радикалы модифицируют белки (Дубинина Е.Е., Шугалей И.В., 1993), нарушают структуру ДНК, разрушают гормоны и другие функционально активные вещества (Владимиров Ю.А., Арчаков А.И., 1972).

Устойчивость растений к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды зависит от состояния системы детоксикации АФК, причем недостаток одного компонента может быть компенсирован за счет возрастания вклада другого защитного механизма.

Устойчивость растений к стрессу – это генетически наследуемый потенциальный признак, который в оптимальных условиях вегетации растений не проявляется и реализуется лишь, когда начинает действовать экстремальный фактор достаточной напряженности (Удовенко Г.В., 1979). Поэтому для определения уровня устойчивости растение должно быть подвергнуто повреждающему воздействию; наблюдая за характером ответной реакции, можно получить информацию об устойчивости организма к действующему фактору.

Считается, что реакция растения на любые отклонения экологических факторов от нормы включает специфические и неспецифические ответные реакции (Генкель П.А., 1982; Родченко О.П., Маричева Э.А., Акимова Г.П., 1988; Цветков И.Л., Коничев А.С., 2013). При этом специфическое реагирование наблюдается в тех условиях, где проявляется устойчивость и одно из важнейших условий выживания – способность к адаптивному повышению устойчивости.

В предыдущей главе нами была рассмотрена онтогенетическая изменчивость состава и активности ферментов (пероксидазы и каталазы), которые иллюстрируют высокую пластичность энзиматических систем в приспособлении сои к условиям обитания. Для более глубокого и всестороннего понимания адаптации и устойчивости организмов были определены активность и множественные молекулярные формы антиоксидантных ферментов (пероксидазы и каталазы) и уровень низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, каротинов, токоферолов) в листьях и семенах *G. max* и *G. soja*, подверженных воздействию высокой и низкой положительных температур, избыточному и недостаточному увлажнению почвы, продолжительности светового дня.

#### **4.1 Адаптация и устойчивость *G. max* и *G. soja* к высокой и низкой положительным температурам с участием антиоксидантной системы**

Температура занимает особое место среди различных абиотических факторов, действующих на растения. Существование значительного количества регионов с неблагоприятными для возделывания сельскохозяйственных культур климатическими условиями, в первую очередь – температурными, является причиной существенных потерь урожая, которые почти ежегодно несет сельское хозяйство. В период активной вегетации растения могут подвергаться различным по интенсивности воздействиям отрицательных, низких положительных и высоких температур, поэтому в процессе эволюции у растений сформировались разнообразные механизмы защиты от негативного влияния неблагоприятных температур (Титов А.Ф. и др., 2006).

Поскольку у растений отсутствуют механизмы удержания тепла, они вынуждены постоянно адаптироваться к колебаниям температуры среды обитания. По вопросам термоадаптации растений накоплен обширный и разнообразный материал (Александров В.Я., 1975, 1985; Генкель П.А., 1982;

Жученко А.А., 2001; Тарчевский И.А., 2001; Лукаткин А.С., 2002; Чиркова Т.В., 2002), однако до сих пор отсутствуют четкие представления о механизмах этого процесса.

А.Ф. Титов с соавторами (1987) установили границы температурных зон для сои: при температурах от 1 до 11°C увеличивается холодоустойчивость растений, под влиянием 30-42°C повышается жароустойчивость. Температуры, находящиеся в интервале между 12 и 29°C, являются фоновыми, не влияют на изменение уровня холодо- и жароустойчивости. При 0°C и ниже, а также 43°C и выше уровень устойчивости резко снижается, что приводит в дальнейшем к гибели растений. На основании проведенных исследований авторы выделили пять температурных зон – фоновую, холодого и теплового закаливания, холодого и теплового повреждения. Изменение температуры в пределах фоновой зон не сказывается на устойчивости растений, температуры из зон холодого и теплового закаливания вызывают повышение устойчивости растений, тогда как температуры из зон повреждения – её снижение.

Тепловой режим среды обитания оказывает существенное влияние на интенсивность и направленность физиологических и биохимических процессов, рост, продуктивность растений (Levitt J., 1980a). Известно, что повреждающие температуры влияют на интенсивность фотосинтеза, дыхания и транспирации растений, поглощающую функцию корней, превращение и транспорт веществ и другие метаболические процессы. При этом важное значение имеют абсолютная величина температуры, продолжительность её воздействия, видовые и сортовые особенности растений, фаза онтогенеза и т.д. (Дроздов С.Н., Курец В.К., 2003).

А.Ф. Титов (1978) высказал предположение, что при длительном воздействии экстремальных температур на растения, определяющими рост термоустойчивости выступают генетические механизмы, а также молекулярные (изменение конформационных свойств), биохимические (изменение скорости биохимических реакций и превращений) и

физиологические (изменение водного режима, дыхания, фотосинтеза) механизмы. Устойчивость растений при кратковременном температурном стрессе определяется молекулярно-биохимическими превращениями.

К важнейшим приспособительным реакциям по отношению к температуре Д.Ф. Проценко (Алексеев В.Г., 1994) причисляет перестройку ферментного комплекса, взаимопревращения белков, изменение обмена нуклеиновых кислот. А.П. Веселовым (2001) установлено, что в формировании ответных реакций растений на стрессовые температуры участвуют фитогормональные и антиоксидантные системы.

В механизмах термоадаптации растений немаловажную роль играют множественные молекулярные формы ферментных систем. Известно, что изоферменты различаются по термостабильности и другим параметрам, поэтому преимущественный синтез одних по сравнению с другими у организмов, адаптированных к данным температурным условиям, может способствовать их нормальному метаболизму в месте обитания (Александров В.Я., 1975; 1985; Хочачка П., Сомеро Дж., 1988; Шерепитко В.В. и др., 1990; Лютова М.И., 1995; McCown В.Н., 1969).

В ряде работ было высказано предположение об участии пероксидазы в адаптации растений к высоким температурам (Ивакин А.П., Грушин А.А., 1986; Сарсенбаев К.Н., Полимбетова Ф.А., 1986; Гольшкина Л.В., Красова Н.Г., Галашева А.М., 2014; Красова Н.Г., 2015; Delincee F., Radola B.J., Drawert F., 1971; Fieldes M.A., Tyson H., 1982). Количественные и качественные изменения электрофоретического спектра пероксидазы свидетельствуют об адаптивной перестройке окислительно-восстановительных систем, связанных с приспособлением к новому температурному режиму на ферментном уровне (Титов А.Ф., 1975; Севрова О.К., Новоселова А.Н., 1977; Олейникова Т.В., Волкова А.М., Пушина Р.Н., 1979).

Охлаждение вызывает существенные изменения в протекании окислительно-восстановительных процессов в листьях растений. Ряд авторов

отмечает, что устойчивые к низкотемпературному стрессу растения, в частности, пшеница и рис сохраняли активность антиоксидантных ферментов на более высоком уровне, чем неустойчивые (Лукаткин А.С., 2002; Leipner J., Fracheboud Y., Stamp P., 1999).

Изменчивость изоферментного состава пероксидаз под воздействием низких положительных, а также отрицательных температур показана в ряде работ, выполненных на различных растениях (Петрова О.В. и др., 1982; 1985; Тажибаева Т.Л., 1984; Перуанский Ю.В., Тажибаева Т.Л., 1984; 1987; Савич И.М., Тажибаева Т.Л., Перуанский Ю.В., 1988; Ю.В. Перуанский, И.М. Савич, Т.Л. Тажибаева, 1991; Капустян А.В. и др., 2004).

Сведения о влиянии высоких и низких положительных температур на активность каталазы в растениях часто различаются или даже противоречат друг другу вследствие того, что ответ растений в значительной степени зависит от их устойчивости или восприимчивости к стрессу и к способу, которым стресс был вызван (Лукаткин А.С., 2002; Попов В.Н. и др., 2006; Полесская О.Г., 2007; Радюк М.С. и др., 2009; Кошкин Е.И., 2010; Чупахина Г.С. и др., 2011; Lee D.H., Lee C.B., 2000; Gechev T. et al., 2003). M. Janmohammadi, V. Enayati и N. Sabaghnia (2012) отмечали повышение активности каталазы в листьях озимой пшеницы при холодной акклиматизации.

М.С. Радюк с соавторами (2009) исследовали влияние низкой положительной температуры (2°C) на содержание низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбиновая кислота, глутатион, каратиноидов), а также активность антиоксидантных ферментов (аскорбатпероксидазы, каталазы, глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы) в зеленых листьях ячменя. В стрессовых условиях было зафиксировано увеличение количества низкомолекулярных антиоксидантов, особенно восстановленной формы аскорбата и активности антиоксидантных ферментов.

Среди низкомолекулярных соединений важную роль в устойчивости клеток растений к окислительным повреждениям играют токоферолы и

аскорбиновая кислота, которые, возможно, находятся в синергических взаимоотношениях (Мерзляк М.Н., 1989). Аскорбиновая кислота является одним из факторов, определяющих адаптацию растений к воздействию пониженных температур. Установлено, что понижение температуры, как правило, увеличивает содержание аскорбиновой кислоты в растениях. Отмечено снижение аскорбиновой кислоты в проростках, подвергнутых действию высокой температуры. Однако в некоторых растениях и в условиях высоких температур происходит образование аскорбиновой кислоты (Овчаров К.Е., 1969).

Токоферолы являются активными антиоксидантами и факторами, стабилизирующими мембраны (Агабейли Р.А., 1989; Makoto M., Katsuhiko S., 1978). Установлена корреляция между эндогенным содержанием токоферолов и устойчивостью к действию техногенных и природных экстремальных факторов (Агабейли Р.А., Меликова Н.К., Искендерова И.М., 1982; Мерзляк М.Н., 1989).

Каротиноиды относятся к антиоксидантам липидной фазы, основная их роль проявляется в связывании синглетного кислорода, но они также могут обезвреживать и пероксидные радикалы (Колупаев Ю.Е., 2016; Gill S.S., Tuteja N., 2010). При экстремальных температурах в листьях гороха увеличивается количество каротиноидов, возможно, это происходит вследствие компенсации истощения других антиоксидантных систем (Курганова Л.Н. и др., 1997). Сравнительное определение изменения количества хлорофилла и каротиноидов, а также витамина Е показало, что в то время, как содержание пигментов снижается, накопление токоферолов возрастает (Рысс С.М., 1963).

Таким образом, по вопросу биохимических механизмов адаптации и устойчивости растений к действию экстремальных температур в литературе накоплены многочисленные, хотя и весьма противоречивые сведения. Однако недостаточно изучено изменение активности антиоксидантной системы сои в связи с флуктуациями температуры. Большой интерес

представляет изучение полиморфизма ферментных систем сои в экстремальных условиях, хорошо исследованы только множественные молекулярные формы семян сои (Селихова О.А., 2003; Тихончук П.В., 2004а; Иваченко Л.Е., 2012).

#### 4.1.1 Влияние высокой положительной температуры на рост, развитие и показатели продуктивности *G. max* и *G. soja*

Температура – ведущий фактор, влияющий на рост и развитие растений. Особую актуальность проблема теплоустойчивости растений приобретает в связи с глобальным потеплением.

Воздействие высокой температуры (45°C) в течение 2 и 12 часов на растения сои приводит к существенным нарушениям и повреждениям, которые проявляются в изменении продолжительности фенологических фаз, формировании репродуктивных органов и продуктивности. Гипертермия в течение 12 часов удлиняет период цветения: у культурной на 8 суток, у дикорастущей сои на 6 суток (рис. 21).

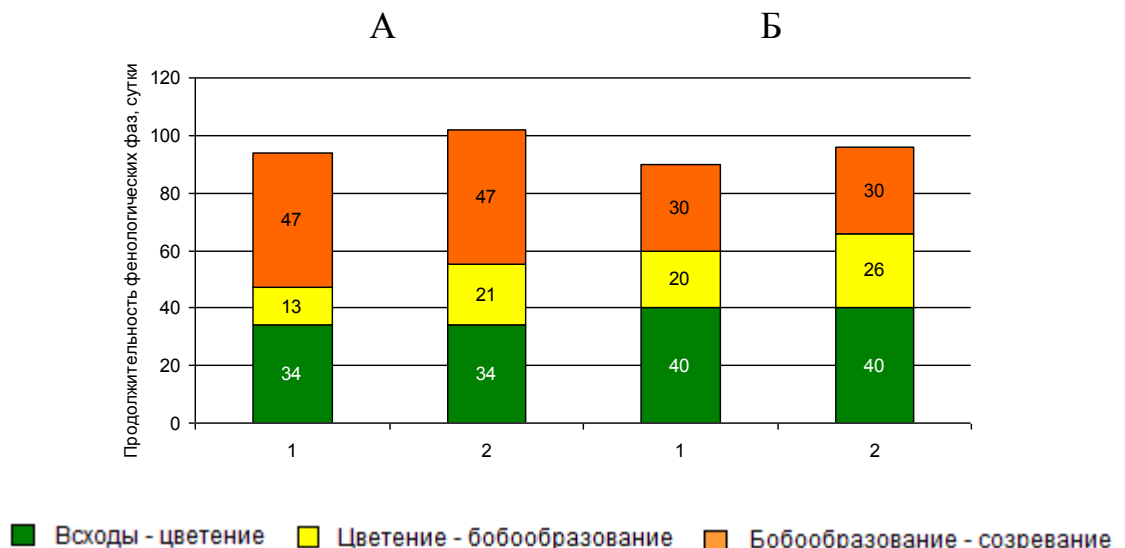


Рисунок 21 – Влияние температуры (45°C) на продолжительность фенологических фаз роста и развития сои сорта Лидия (А), формы КА 1344 (Б): 1 – контроль; 2 – температура (45°C) в течение 12 часов, среднее за 2008-2010 гг.

Период созревания семян у дикорастущей формы сои занимал 30 суток, у культурной сои этот период на 17 суток длиннее. Кратковременное повышение температуры в разные фенологические фазы развития растений вызвало уменьшение их высоты. Максимальное снижение высоты растений у сорта Лидия отмечено при двенадцатичасовом воздействии высокой температуры в фазе третьего тройчатого листа. У дикорастущей формы сои длительное воздействие высокой температуры в фазе цветения привело к наибольшему снижению высоты растений на 19,5 см (табл. 19).

Таблица 19 – Влияние температуры (45°C) на показатели продуктивности *G. max* и *G. soja*, среднее за 2008-2010 гг.

Фенологическая фаза	Сорт (форма*) (фактор А)	Температура и время воздействия (фактор В)	Показатели продуктивности (среднее с растения)			
			высота растения, см	количество бобов, шт.	количество семян, шт.	масса семян, г
Третий тройчатый лист	Лидия	Контроль	49,7	7,0	14,0	1,4
		45°C, 2 ч	46,9	6,0	12,0	1,2
		45°C, 12 ч	41,1	5,0	8,0	0,9
	КА 1344*	Контроль	67,4	7,0	20,0	1,4
		45°C, 2 ч	61,4	6,0	11,0	0,9
		45°C, 12 ч	59,0	5,0	7,0	0,5
Цветение	Лидия	Контроль	49,7	7,0	14,0	1,4
		45°C, 2 ч	47,2	5,0	9,0	0,7
		45°C, 12 ч	43,5	4,0	7,0	0,5
	КА 1344*	Контроль	67,4	7,0	20,0	1,4
		45°C, 2 ч	57,7	5,0	11,0	0,6
		45°C, 12 ч	47,9	2,0	5,0	0,4
Бобообразовании	Лидия	Контроль	49,7	7,0	14,0	1,4
		45°C, 2 ч	43,1	5,0	7,0	0,9
		45°C, 12 ч	44,1	4,0	4,0	0,4
	КА 1344*	Контроль	67,4	7,0	20,0	1,4
		45°C, 2 ч	61,3	5,0	8,0	0,6
		45°C, 12 ч	62,0	3,0	6,0	0,4
		НСР <sub>0,5</sub>	1,0	1,4	1,3	0,11
		НСР <sub>А</sub>	0,6	0,9	0,7	0,07
		НСР <sub>В</sub>	0,4	0,6	0,5	0,05



Воздействие неблагоприятных факторов среды вызывает значительные изменения в функциональном состоянии растений и приводит к снижению их жизнеспособности и продуктивности. Дикорастущая соя, в отличие от селекционных сортов, формировалась в условиях естественного отбора и приобрела свойства, необходимые для выживания. Для дикорастущей сои характерно обилие семян и легкость их распространения – одно из важных средств в борьбе за существование. Однако гипертермия отрицательно сказалась на формировании количества бобов у сои, особенно у формы КА 1344. Наибольшее уменьшение количества семян в результате длительного воздействия высокой повреждающей температуры наблюдалось у сорта Лидия – в 3,5 раза (растения подверглись воздействию высокой температуры в фазе бобообразования), у формы КА 1344 в 4 раза (растения подверглись воздействию высокой температуры в фазе цветения).

Действие высокой повреждающей температуры в течение непродолжительного или длительного времени в различные периоды вегетации привел к снижению массы семян с одного растения. Как показали исследования, гипертермия отрицательно сказывается на всех показателях продуктивности растений сои, особенно в фазах цветения и бобообразования, масса семян с одного растения снижается в 2-3,5 раза у культурной и дикорастущей сои.

Однако при оценке устойчивости растений очень важно учитывать их сохранность, так как от этого зависит урожайность сои. Выживаемость растений культурной и дикорастущей сои составила 87 и 93% соответственно.

#### **4.1.2 Адаптация и устойчивость *G. max* и *G. soja* к высокой положительной температуре с участием антиоксидантных ферментов**

Одним из показателей биологической устойчивости растений к постоянно меняющимся условиям внешней среды является изменение

активности антиоксидантных ферментов. Совместно с Т.П. Хайрулиной (2012, 2017) провели оценку теплоустойчивости сои по изменению активности и множественных молекулярных форм пероксидазы и каталазы под влиянием высокой температуры в основные фенологические фазы: третий тройчатый лист, цветение, бобообразование.

Интенсивность воздействия неблагоприятных факторов на обмен веществ растений определяется изменением активности ферментов, имеющих отношение к адаптации растений (Тихончук П.В., Иваченко Л.Е., Селихова О.А., 2002; Семенова Е.А., Хайрулина Т.П., 2012; Голышкина Л.В., Красова Н.Г., Галашева А.М., 2014).

Пероксидаза является одним из ферментов, который практически сразу активируется в ответ на воздействие высокой температуры. Этот фермент выполняет важную роль в регуляции биосинтетических и окислительных процессов, связанных с образованием энергии в клетках растений, и обладает высокой термостабильностью (Рубин Б.А. и др., 1974; Титов А.Ф., 1975; Кузнецова В.А., 2012). Предполагается, что присутствие двух ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в молекуле фермента обеспечивает его термостабильность (Газарян И.Г., Хушпульян Д.М., Тишков В.И., 2006; Максимов И.В. и др., 2011).

Действие высокой температуры в фазе третьего тройчатого листа на растения сои в течение двух и двенадцати часов привело к увеличению активности пероксидазы: у культурной – в 2 и 4 раза по отношению к контролю соответственно (рис. 22А, прил. В, табл. В.1); у дикорастущей сои при кратковременном воздействии высокой температуры активность фермента была в 2,4 раза выше, чем в контроле, при длительном воздействии высокой температуры активность пероксидазы увеличивалась незначительно (рис. 22Б, прил. В, табл. В.2).

Воздействие на растения высокой температуры ( $45^{\circ}\text{C}$ ) в фазе цветения привело к снижению активности пероксидазы в листьях культурной и дикорастущей сои. Действие высокой температуры в течение двух часов на растения сорта Лидия привело к незначительному снижению активности

пероксидазы – в 1,5 раза, при воздействии высокой температуры в течение двенадцати часов снижение активности фермента составило более чем в 10 раз, однако в течение семи суток активность практически восстанавливалась до уровня контроля.

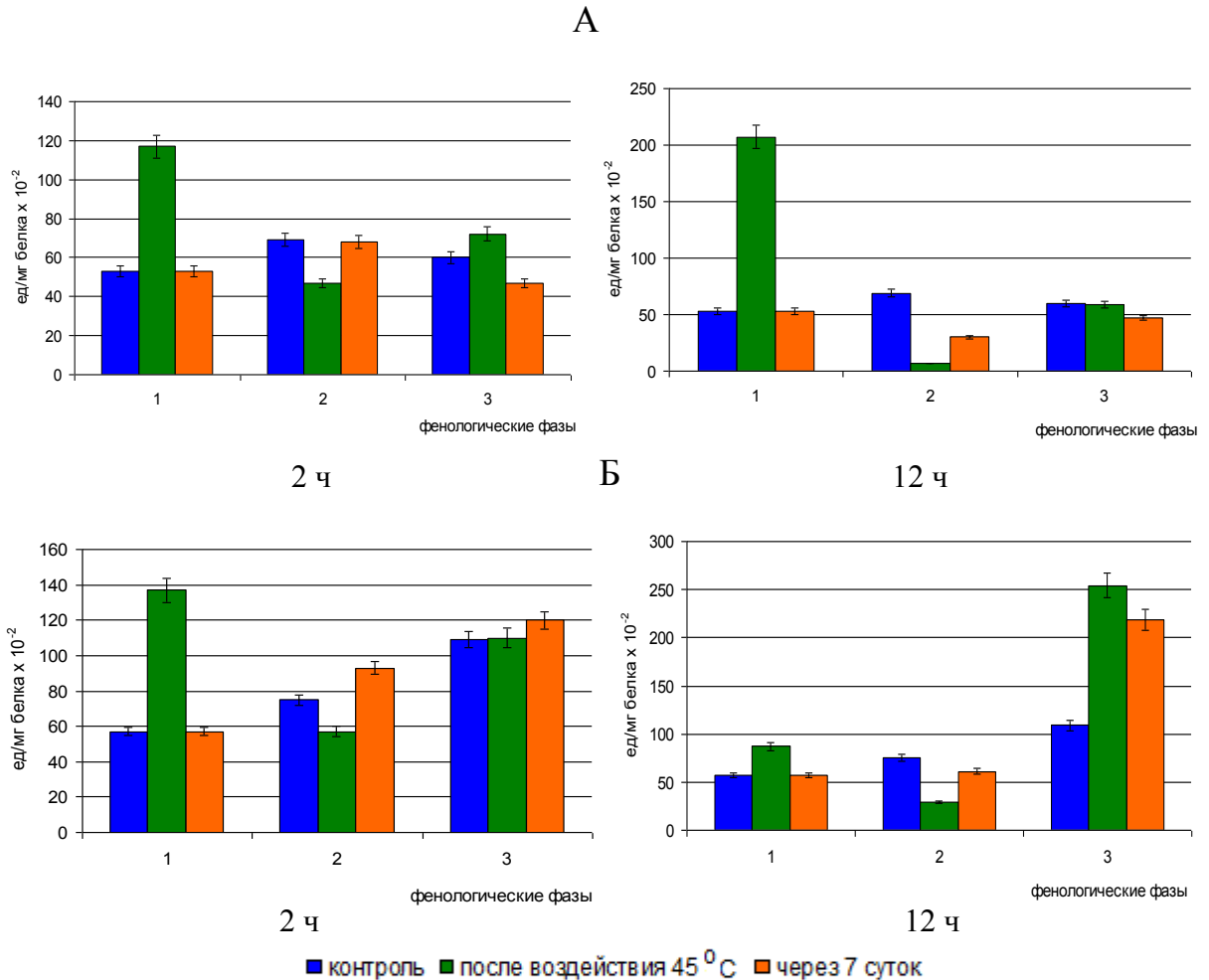


Рисунок 22 – Удельная активность пероксидазы в листьях сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) при действии температуры (45<sup>0</sup>С) в фенологические фазы: 1 – третий тройчатый лист; 2 – цветение; 3 – бобообразование, ед/мг белка × 10<sup>-2</sup>, среднее за 2008-2010 гг.

В листьях дикорастущей сои в фазе цветения активность снижалась по отношению к контролю в 1,3 раза при кратковременном и в 2,6 раза – при длительном воздействии высокой температуры. Согласно литературным данным, снижение активности антиоксидантных ферментов свидетельствует об усилении окислительного стресса (Милютин И.Л. и др., 2008).

В фазе образования бобов колебание показателей активности пероксидазы опытных растений культурной сои после кратковременного и длительного воздействий высокой температуры незначительны. У дикорастущей сои активность пероксидазы в листьях опытных растений через двенадцать часов воздействия высоких температур увеличилась в 2 раза.

Помещение растений в оптимальные условия оказывает положительное влияние на физиолого-биохимические процессы в растениях сои. Согласно литературным данным (Удовенко Г.В., 1977), интенсивность репарационных процессов после прекращения действия неблагоприятных факторов коррелирует со степенью устойчивости растений. Форма КА 1344 проявила большую устойчивость, чем сорт Лидия, репарационные процессы в растениях дикорастущей сои протекают быстрее.

Каталаза, так же, как и пероксидаза, играет важную роль в регуляции метаболических процессов в неблагоприятных условиях. В листьях каталаза является наиболее важным среди ферментов, обезвреживающих перекись водорода (Azevedo-Neto A.D. et al., 2006). Гипертермия в фазе третьего тройчатого листа существенно активировала активность каталазы у сорта Лидия, которая возрастала в 6 и 15 раз соответственно при кратковременном и длительном воздействии высокой температуры (рис. 23А, прил. В, табл. В.3). У дикорастущей сои активность каталазы после воздействия высоких температур в течение двух часов увеличилась в 2 раза, после двенадцатичасового – показатель остался на уровне контроля (рис. 23Б, прил. В, табл. В.4).

В отличие от пероксидазы активность каталазы опытных растений сорта Лидия после действия высокой температуры в фазе цветения в течение двух часов была выше, чем в контрольных растениях в 4 раз. Гипертермия двенадцать часов способствовал увеличению активности каталазы в листьях культурной сои в 3 раза, по сравнению с контролем.

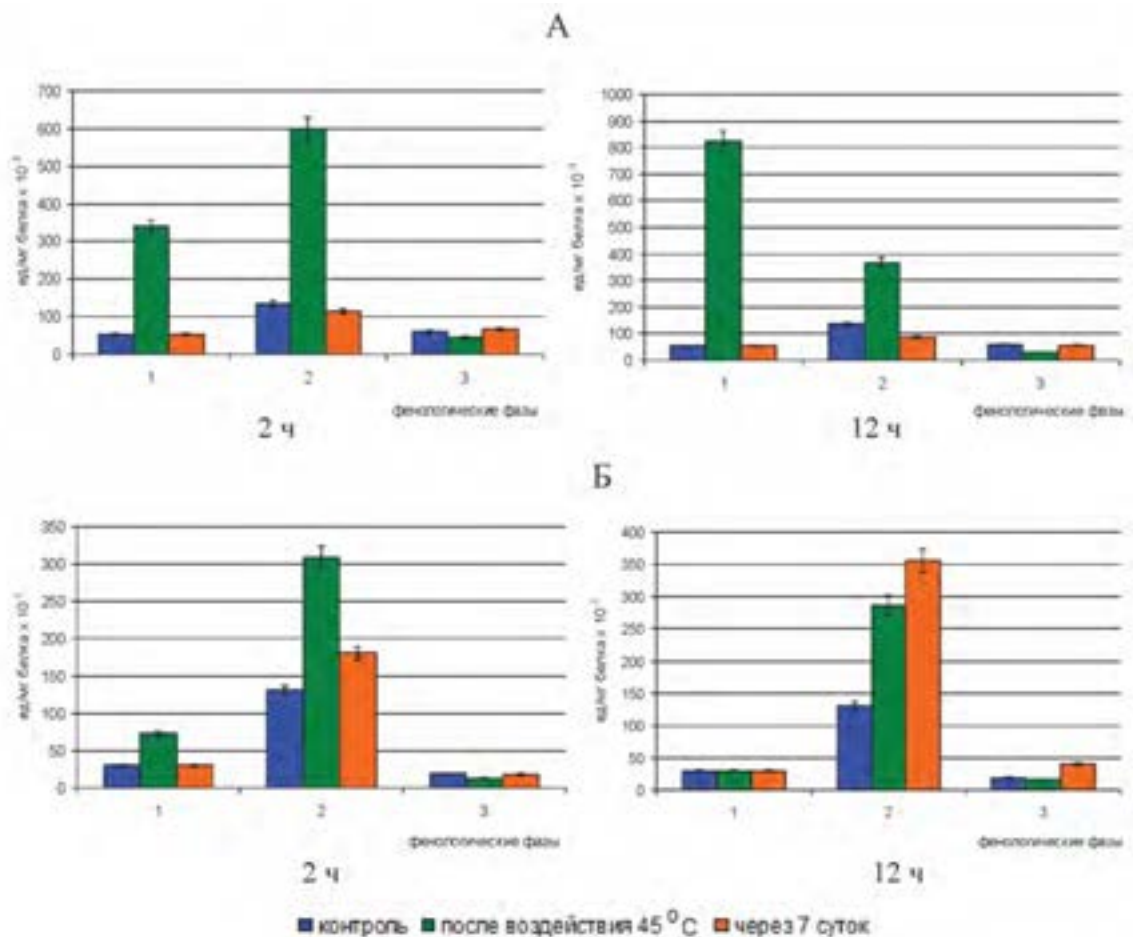


Рисунок 23 – Удельная активность каталазы в листьях сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) при действии температуры (45°С) в фенологические фазы: 1 – третий тройчатый лист; 2 – цветение; 3 – бобообразование, ед/мг белка x 10<sup>-3</sup>, среднее за 2008-2010 гг.

У дикорастущей формы КА 1344 действие высоких температур в течение двух и двенадцати часов также привело к увеличению активности каталазы в фазе цветения в 2 раза. Поэтому можно предположить, что каталаза – наиболее значимый фермент, разрушающий H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в листьях растений, что согласуется с литературными данными (Ху Ю.Ф., Лиу Ж.П., 2008; Милютин И.Л. и др., 2008). Семисуточной репарации оказалось достаточно для нормализации активности, она соответствовала контролю. В фазе образования бобов колебания показателей активности каталазы культурной и дикорастущей сои после кратковременного и длительного воздействий высокой температуры незначительны.

В настоящее время считается доказанным, что при действии на растительные клетки неблагоприятных факторов, в них формируется особый набор изоферментов пероксидазы. Увеличение гетерогенности фермента связывают с адаптационными процессами в растительных клетках, а его обеднение – с усилением процессов деградации (Сарсенбаев К.Н., Полимбетова Ф.А., 1986; Савич И.М., 1989; Урманцева В.В., 1992; Gaspar T. et al., 1982). При этом важно выяснить роль отдельных изопероксидаз для дальнейшего их использования в диагностике устойчивости и в качестве источников высокой жаростойкости для привлечения их в селекционный процесс.

Во время онтогенеза устойчивость растений к гипертермии меняется, она зависит от фазы развития и продолжительности воздействия высокой температуры. Фазы цветения и бобообразования – критические периоды в развитии сои, кратковременное воздействие высокой температуры приводит к снижению активации форм Rf 0,35 и 0,48 в листьях сорта Лидия и Rf 0,47 у дикорастущей сои (фаза цветения) (рис. 24).

Продолжительное воздействие экстремальной температуры сопровождается образованием дополнительных компонентов в зоне малоподвижных форм: в листьях сорта Лидия – Rf 0,05; 0,12 и Rf 0,05; 0,07; 0,12 – КА 1344. Они синтезируются на более поздних фазах развития сои и обеспечивают функционирование растений в экстремальных условиях.

После возвращения растений в оптимальные условия различия между электрофоретическими спектрами пероксидазы опытных и контрольных растений сохраняются.

В результате исследований выявлены стабильные формы пероксидазы у культурной и дикорастущей сои (Rf 0,02; 0,10), которые не изменяются при воздействии высокой повреждающей температуры и лабильные формы, инактивирующиеся при двенадцатичасовом воздействии температуры 45°C.

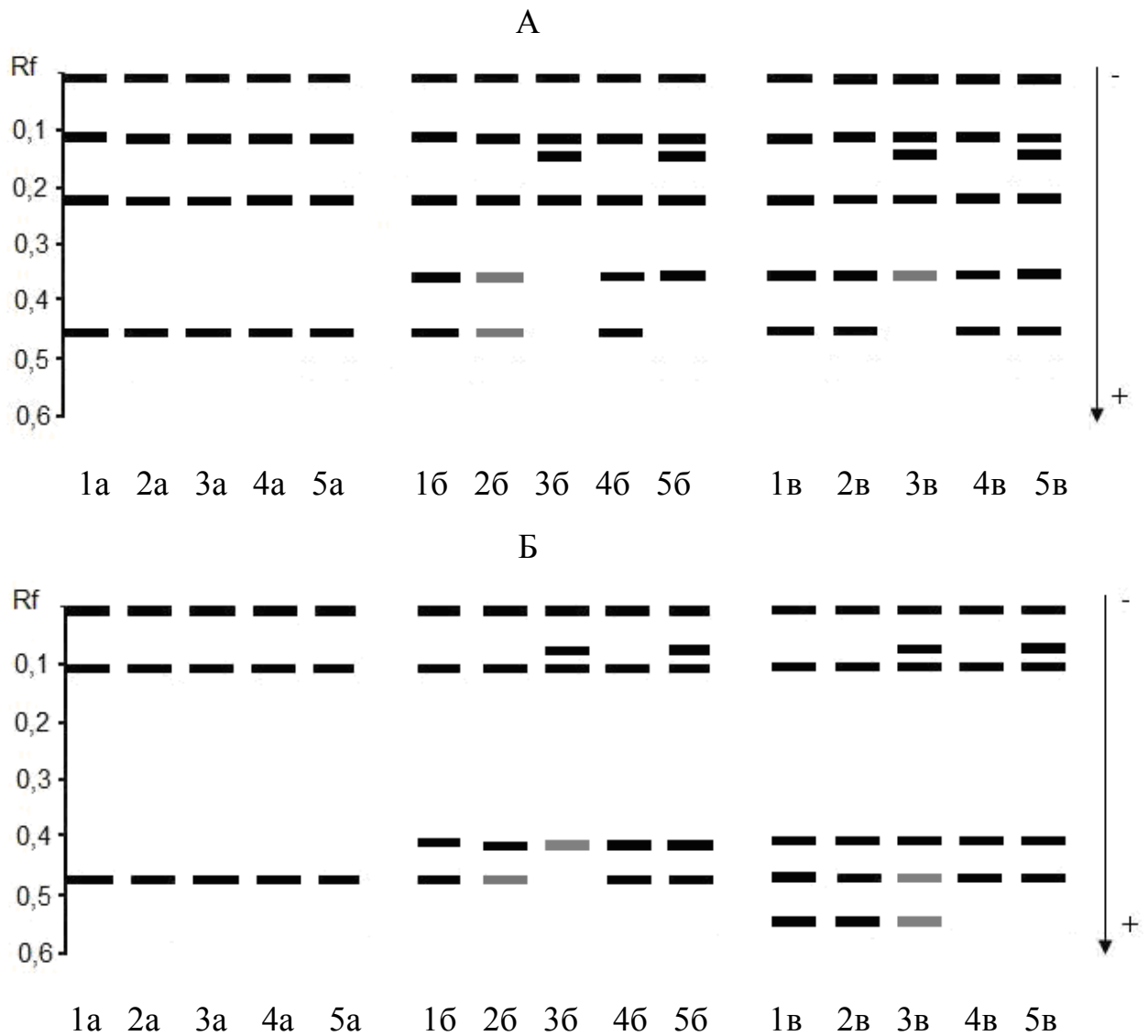


Рисунок 24 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы в листьях сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) в фенологические фазы: третий тройчатый лист (а), цветение (б), бобообразование (в), 1 – контроль; 2 – 45°С в течение 2 часов; 3 – 45°С в течение 12 часов; 4 – через 7 суток после 2-часового воздействия 45°С; 5 – через 7 суток после 12-часового воздействия 45°С

В условиях двенадцатичасового воздействия высокой температуры, в фазах цветения и бобообразования, у сорта Лидия исчезает компонент с каталазной активностью  $R_f$  0,56-0,60, у формы КА 1344 –  $R_f$  0,54-0,56. Остальные множественные молекулярные формы имели  $R_f$  одинаковую с контролем (рис. 25).

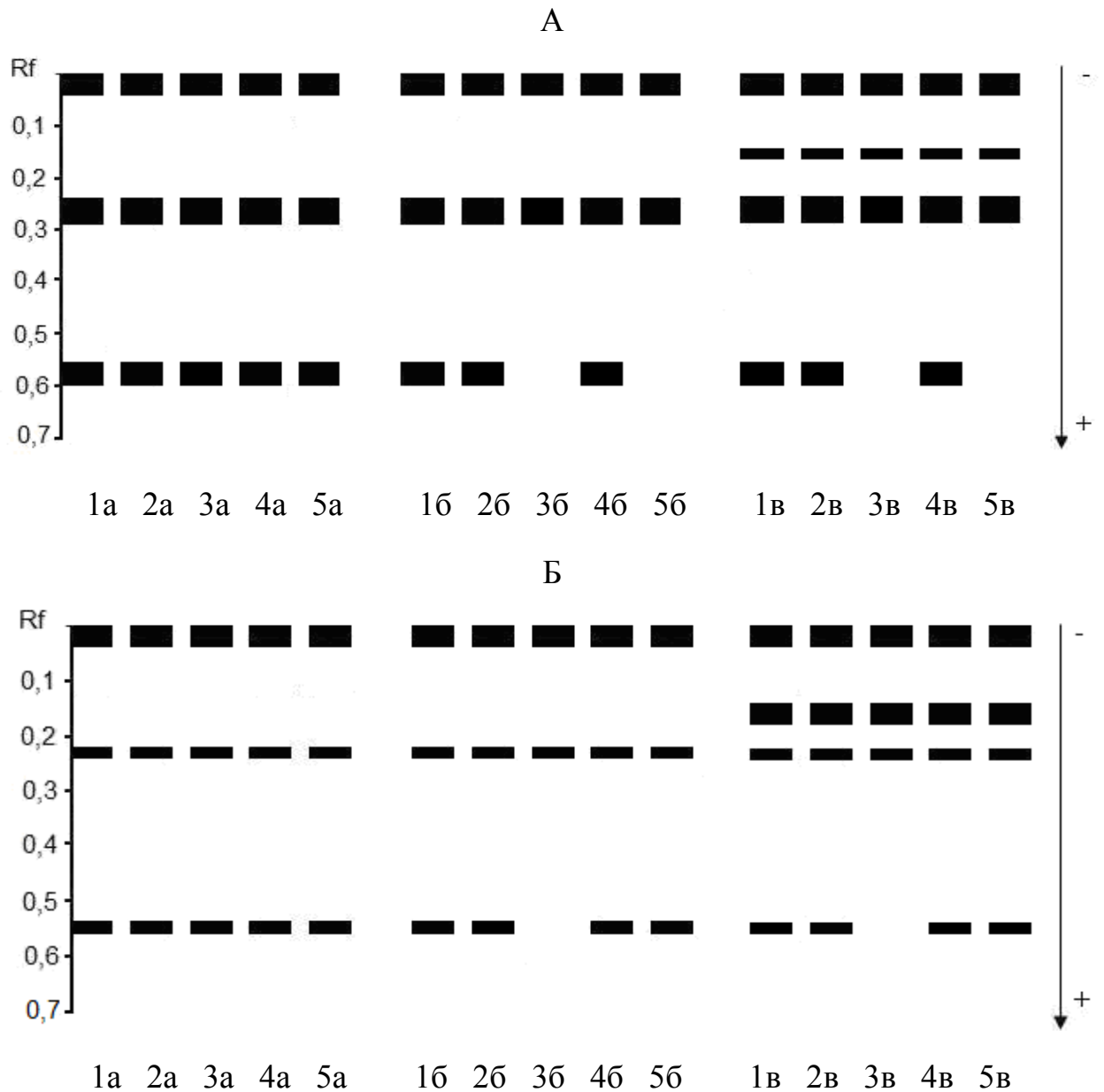


Рисунок 25 – Схемы электрофоретических спектров каталазы в листьях сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) в фенологические фазы: третий тройчатый лист (а), цветение (б), бобообразование (в), 1 – контроль; 2 – 45°С в течение 2 часов; 3 – 45°С в течение 12 часов; 4 – через 7 суток после 2-часового воздействия 45°С; 5 – через 7 суток после 12-часового воздействия 45°С

После семисуточного восстановления у дикорастущей сои компоненты имели аналогичную с контролем подвижность. Длительное воздействие экстремальной температуры оказало более сильное влияние на растения



культурной сои, у которой электрофоретический спектр отличался от контроля.

Таким образом, наибольшие повреждения растения сои отмечено в фазе цветения. Скоординированные изменения активности пероксидазы и каталазы обеспечивают устойчивость растений, появление высокомолекулярных форм пероксидазы в условиях длительного воздействия высокой температуры позволяет растениям адаптироваться и функционировать в экстремальных условиях. Растения дикорастущей формы сои более устойчивы к действию высоких температур, репарационные процессы у них протекают интенсивнее, чем у растений культурного сорта.

На следующем этапе исследований, совместно с Т.П. Хайрулиной (2012), были проанализированы изменения активности пероксидазы и каталазы в семенах растений сои, которые подверглись воздействию высокой температуры в фазах третьего тройчатого листа, цветения и бобообразования.

Экстремальные условия внешней среды нарушают ход метаболических процессов в растениях не только в процессе непосредственного воздействия, но и в последующий период. Действие высокой температуры на растения сои в разные фазы роста и развития повлияло на активность окислительно-восстановительных ферментов в семенах.

Высокотемпературное воздействие в фазе третьего тройчатого листа в течение двух и двенадцати часов привело к увеличению активности пероксидазы более чем на 50% в семенах культурной сои. В семенах дикорастущей сои активность пероксидазы также выше, чем в контроле (табл. 20, прил. В, табл. В.5).

В фазе цветения растения наиболее требовательны к температуре внешней среды и более отзывчивы на действие высокой температуры, что привело к росту активности пероксидазы по отношению к контролю у сорта Лидия, причем более длительное воздействие привело к увеличению активности фермента в 73 раза. В семенах дикорастущей сои активность

пероксидазы изменялась по-иному, при кратковременном воздействии высокой температуры на растение активность фермента была ниже, а при длительном воздействии – выше в 1,4 раза, чем в контроле.

Таблица 20 – Удельная активность пероксидазы (ед/мг белка) и каталазы (ед/мг белка  $\times 10^{-3}$ ) в семенах сои при действии температуры (45°C) на растения по фенологическим фазам, среднее за 2008-2010 гг.

Фенологическая фаза	Сорт (форма*)	Вариант опыта	Удельная активность пероксидазы	Удельная активность каталазы
			$\bar{X} \pm S\bar{x}$	
	Лидия	Контроль	73 $\pm$ 4	73 $\pm$ 10
	КА 1344	Контроль	610 $\pm$ 4	30 $\pm$ 5
Третий тройчатый лист	Лидия	45°C, 2 ч	105 $\pm$ 6	68 $\pm$ 7
		45°C, 12 ч	104 $\pm$ 9	59 $\pm$ 8
	КА 1344	45°C, 2 ч	751 $\pm$ 8	27 $\pm$ 4
		45°C, 12 ч	688 $\pm$ 14	20 $\pm$ 4
Цветение	Лидия	45°C, 2 ч	112 $\pm$ 5	20 $\pm$ 4
		45°C, 12 ч	414 $\pm$ 13	30 $\pm$ 6
	КА 1344	45°C, 2 ч	367 $\pm$ 8	13 $\pm$ 3
		45°C, 12 ч	854 $\pm$ 13	9 $\pm$ 2
Бобообразование	Лидия	45°C, 2 ч	109 $\pm$ 5	40 $\pm$ 6
		45°C, 12 ч	136 $\pm$ 8	60 $\pm$ 8
	КА 1344	45°C, 2 ч	494 $\pm$ 15	8 $\pm$ 2
		45°C, 12 ч	673 $\pm$ 13	11 $\pm$ 4
НСР <sub>05</sub>			1,8	3,2

Примечание:  $\bar{X} \pm S\bar{x}$  – среднее арифметическое  $\pm$  ошибка среднего

После двухчасового воздействия высокой температуры на растения сои в фазе бобообразования активность пероксидазы в семенах сорта Лидия увеличивается, а в семенах формы КА 1344, напротив, несколько снижается. Действие высокой температуры в течение двенадцати часов способствовало увеличению активности пероксидазы в семенах культурной и дикорастущей сои.

В результате проведенных исследований было установлено незначительному снижению активности каталазы у *G. max* и *G. soja* (табл. 20,

прил. В, табл. В.6). Действие повреждающей температуры на растения в фазе цветения в течение двух и двенадцати часов привело к существенному снижению активности каталазы в семенах сорта Лидия (в 3,6-2,4 раза соответственно) и формы КА 1344 (в 2-3 раза соответственно). Отрицательное действие высокой положительной температур на активность каталазы после действия в фазе бобообразования продолжается и вызывает снижение активности каталазы в семенах сорта Лидия на 45% и 18% в зависимости от времени воздействия. Удельная активность каталазы в семенах дикорастущей формы сои снижалась в 4 раза при кратковременном и в 3 раза при действии высокой температуры в течение двенадцати часов.

Воздействие высокой температуры на растения сои в фазе бобообразования привело к изменению электрофоретических спектров пероксидазы и каталазы в семенах. У сорта Лидия выявлено шесть множественных молекулярных форм с пероксидазной активностью, у дикорастущей сои – пять форм (рис. 26А).

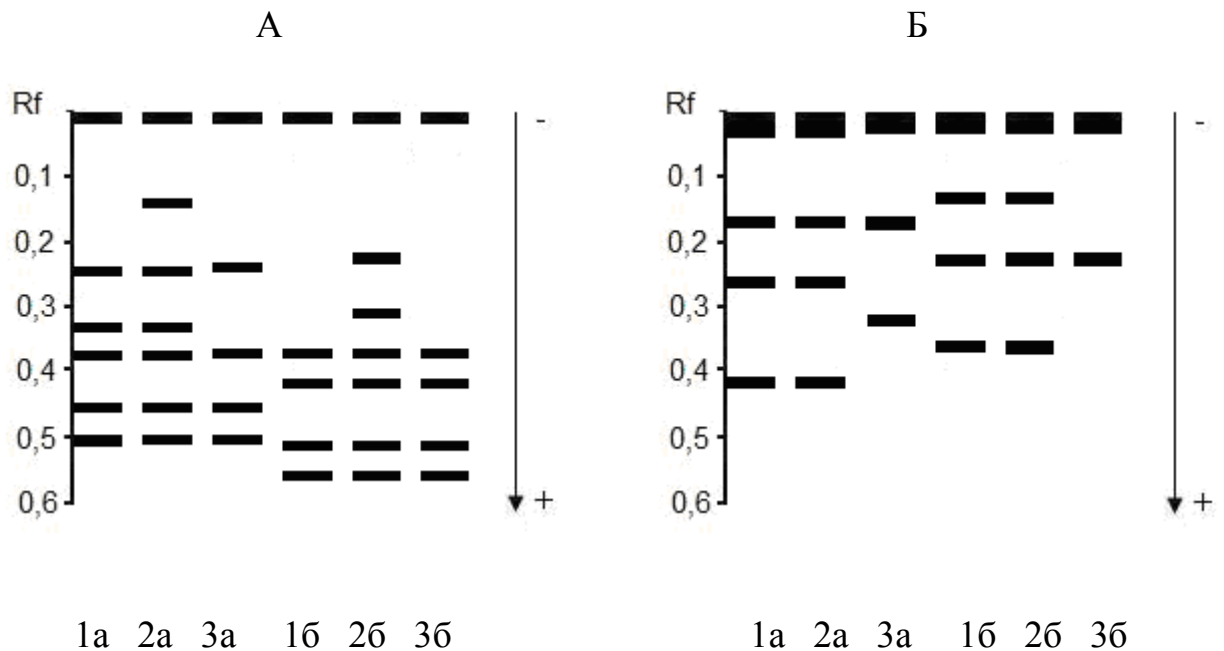


Рисунок 26 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы (А) и каталазы (Б) в семенах сорта Лидия (а) и формы КА 1344 (б) при действии температуры (45°C) на растения в фазе бобообразования: 1 – контроль; 2 – 45°C в течение 2 часов; 3 – 45°C в течение 12 часов

Кратковременное действие высокой повреждающей температуры на растения сои приводит к увеличению гетерогенности пероксидазы: у сорта Лидия за счет дополнительного компонента с Rf 0,14. У дикорастущей сои количество множественных молекулярных форм увеличивается с пяти до семи за счет дополнительных компонентов с Rf 0,22; 0,30.

Согласно литературным данным, высокая гетерогенность пероксидазы свидетельствует о большой устойчивости видов и сортов растений к неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам внешней среды (Титов А.Ф., 1975; Андреева В.А., 1988). Ряд исследователей утверждают, что даже секундные воздействия повреждающих температур способны вызвать впоследствии обратимое повышение устойчивости (Александров В.Я., 1975; Титов А.Ф. и др., 1987).

Известно, что достаточно продолжительное действие повреждающих температур приводит к снижению устойчивости растений, нарушению многих его функций и повреждению внутриклеточных структур (Титов А.Ф. и др., 2006). Воздействие высокой повреждающей температуры в течение двенадцати часов приводит к снижению гетерогенности пероксидазы у культурной сои по сравнению с контролем. У дикорастущей сои электрофоретический спектр остается без изменений. В варианте с длительным воздействием повреждающей температуры количество форм каталазы у культурной и дикорастущей сои уменьшается (рис. 26Б).

На основании экспериментальных данных были выявлены различия реакции генотипов культурной и дикорастущей сои на высокую повреждающую температуру по изменению активности и термостабильности множественных молекулярных форм ферментов. Кратковременное воздействие высокой температуры на растения сои приводит к увеличению гетерогенности пероксидазы в семенах. Продолжительное действие повреждающей температуры инактивирует среднеподвижные формы с пероксидазной и каталазной активностью у *G. max* и *G. soja*.

### 4.1.3 Влияние высокой положительной температуры на содержание низкомолекулярных антиоксидантов в листьях и семенах *G. max* и *G. soja*

Условия внешней среды иногда являются решающим фактором в биосинтезе витаминов, от содержания которых зависят пищевые и посевные качества семян. Некоторые витамины являются составной частью антиоксидантной системы и определяют эффективность её функционирования. Наибольший интерес вызывают аскорбиновая кислота, токоферол, каротиноиды.

Аскорбиновая кислота принимает участие в детоксикации  $H_2O_2$  в аскорбат-глутатионовом цикле (Foyer C.H., Alscher R.G., Hess J.L., 1993). Кроме того, она может непосредственно реагировать с супероксидными анион-радикалами, молекулярным синглетным кислородом и гидроксильными радикалами (Nakano Y., Asada K., 1981). Аскорбиновая кислота усиливает антиоксидантные свойства  $\beta$ -каротина и токоферола (Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н., 2006). Каротиноиды относятся к жирорастворимым антиоксидантам,  $\beta$ -каротин расходуется при обезвреживании окисdirованных липопротеидов низкой плотности, реагирует с синглетным кислородом (Burton G.W., Ingold K.U., 1984; Naila, K., 1999).  $\alpha$ -Токоферол является эффективным тушителем синглетного кислорода, наряду с каротиноидами препятствует фотодеструкции хлорофилла (Verhoeven A.S., Adams W.W., Demming B., 1999) и подавляет в клетках свободнорадикальные реакции, в частности перекисное окисление липидов (Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н., 2006).

В результате исследований, проведенных в 2008-2010 гг. нами было определено содержание аскорбиновой кислоты и каротина в листьях (табл. 21, прил. Г, табл. Г.1), а также аскорбиновой кислоты, каротина и токоферола в семенах *G. max* и *G. soja* (табл. 22, прил. Г, табл. Г.2).

Таблица 21 – Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в листьях сои при действии температуры (45°C) на растения по фенологическим фазам, мг%, среднее за 2008-2010 гг.

Фенологическая фаза	Сорт (форма*)	Вариант опыта	Низкомолекулярные антиоксиданты	
			аскорбиновая кислота	каротин
			$\bar{X} \pm S\bar{x}$	
Третий тройчатый лист	Лидия	Контроль	190,7±5,0	0,07±0,001
		45°C, 2 ч	97,2±3,0	0,05±0,002
		45°C, 12 ч	75,8±3,0	0,06±0,001
	КА 1344*	Контроль	160,5±4,0	0,03±0,001
		45°C, 2 ч	116,3±4,0	0,07±0,001
		45°C, 12 ч	65,3±2,0	0,09±0,001
Цветение	Лидия	Контроль	146,2±6,0	0,05±0,001
		45°C, 2 ч	160,7±5,0	0,05±0,002
		45°C, 12 ч	174,4±7,0	0,08±0,002
	КА 1344*	Контроль	127,7±4,0	0,09±0,001
		45°C, 2 ч	139,8±6,0	0,10±0,002
		45°C, 12 ч	134,6±5,0	0,09±0,002
Бобообразование	Лидия	Контроль	137,6±6	0,05±0,002
		45°C, 2 ч	129,5±6	0,10±0,001
		45°C, 12 ч	140,3±5	0,13±0,001
	КА 1344*	Контроль	171,6±5	0,05±0,001
		45°C, 2 ч	193,4±6	0,09±0,001
		45°C, 12 ч	204,4±5	0,11±0,001
НСР <sub>05</sub>			0,8	0,02

Примечание:  $\bar{X} \pm S\bar{x}$  – среднее арифметическое  $\pm$  ошибка среднего

Максимальный рост аскорбиновой кислоты у культурной сои отмечен при двенадцатичасовом воздействии высокой температуры в фазе цветения. У формы КА 1344 – в фазе бобообразования. В фазе бобообразования отмечено увеличение содержание каротина в листьях культурной и дикорастущей сои, в 2 раза по сравнению с контролем, что свидетельствует об их важной роли в ответной реакции растений на высокие температуры. Согласно литературным данным, увеличение количества каротиноидов, возможно, компенсирует снижение деятельности других антиоксидантных систем (Кения М.В., Лукиш А.И., Гуськов Е.П., 1993).

Таблица 22 – Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в семенах сои при действии температуры (45°C) на растения по фенологическим фазам, мг%, среднее за 2008-2010 гг.

Фенологическая фаза	Сорт (форма*)	Вариант опыта	Низкомолекулярные антиоксиданты		
			аскорбиновая кислота	каротин	токоферол
			$\bar{X} \pm S\bar{x}$		
	Лидия	Контроль	13,0±5,0	0,09±0,0004	30,0±0,04
	КА 1344*	Контроль	21,9±7,2	0,09±0,002	26,0±0,02
Третий тройчатый лист	Лидия	45°C, 2 ч	10,2±3,1	0,10±0,001	30,0±0,03
		45°C, 12 ч	7,1±3,0	0,03±0,001	125,0±0,03
	КА 1344*	45°C, 2 ч	7,4±3,0	0,11±0,002	22,3±0,09
		45°C, 12 ч	4,7±1,0	0,06±0,002	115,9±0,03
Цветение	Лидия	45°C, 2 ч	10,9±2,0	0,06±0,001	95,3±0,07
		45°C, 12 ч	9,4±3,0	0,06±0,001	5,7±0,04
	КА 1344*	45°C, 2 ч	6,6±2,0	0,16±0,001	128,3±1,00
		45°C, 12 ч	5,2±1,0	0,15±0,002	7,8±0,04
Бобообразование	Лидия	45°C, 2 ч	8,6±3,0	0,03±0,001	164,0±0,01
		45°C, 12 ч	6,6±1,0	0,05±0,0004	15,0±0,03
	КА 1344*	45°C, 2 ч	6,8±1,0	0,05±0,001	42,0±0,04
		45°C, 12 ч	5,1±1,0	0,07±0,001	9,6±0,01
НСР <sub>05</sub>			1,2	0,03	1,7

Примечание:  $\bar{X} \pm S\bar{x}$  – среднее арифметическое  $\pm$  ошибка среднего

Анализ содержания аскорбиновой кислоты в семенах опытных растений показал, что её уровень снижается при действии высокой температуры в любой период развития растений. Кратковременное воздействие на растения высокой температур в фазе третьего тройчатого листа не оказало существенного влияния на синтез каротина в семенах *G. max* и *G. soja*. Только в семенах с растений, подвергнутых воздействию стрессовых температур в течение двенадцати часов, наблюдалось снижение каротина в 3 раза у сорта Лидия и 1,5 раза у формы КА 1344. Длительное воздействие высокой температуры привело к резкому увеличению количества токоферола в семенах как дикой, так и культурной сои  $\approx$  в 4 раза.

Таким образом, при воздействии высокой температуры ферментная защита оказывается менее эффективной в сравнении с действием

низкомолекулярных антиоксидантов. Максимальное количество низкомолекулярных антиоксидантов в листьях сои отмечено у *G. soja* в фазе образования бобов, у *G. max* – в фазах цветения (аскорбиновая кислота) и бобообразования (каротин). В семенах сои накапливается токоферол, который обеспечивает компенсацию истощения других компонентов антиоксидантной защиты.

#### **4.1.4 Влияние низкой положительной температуры на рост, развитие и показатели продуктивности *G. max* и *G. soja***

Один из факторов, ограничивающих продвижение посевов сои в северные районы, – действие низких положительных температур. Устойчивость сои к пониженным температурам зависит от видовой и сортовой принадлежности, фазы роста и развития растений. Наиболее требовательны к теплу растения в период прорастания семян и всходов, цветения и образования бобов. Температура среды обитания оказывает существенное влияние на интенсивность и направленность физиологических и биохимических процессов, рост и продуктивность растений (Климов С.В., 2008; Levitt J., 1980a).

Соя обладает широкой онтогенетической приспособленностью, однако это не гарантирует высокие и стабильные урожаи вне зависимости от климатических условий. Проблема заключается в том, чтобы, с одной стороны, максимально реализовать выработавшийся у растений в процессе длительной эволюции механизм устойчивости к абиотическим факторам, а с другой – обеспечить совпадение важнейших фаз роста и развития растений с более благоприятными для них изменениями условий произрастания.

Реакция растений на снижение температуры зависит от параметров температурного воздействия: абсолютного значения температуры и длительности её воздействия. Прохождение фенологических фаз у растений, которые подвергались воздействию низкой положительной температуры



(5°C) в течение 2 часов, не отличалось от контроля. Под влиянием низкой положительной температуры (5°C) в течение 48 часов период цветения удлиняется: у культурной сои на 6 суток, у дикорастущей на 2 суток (рис. 27).

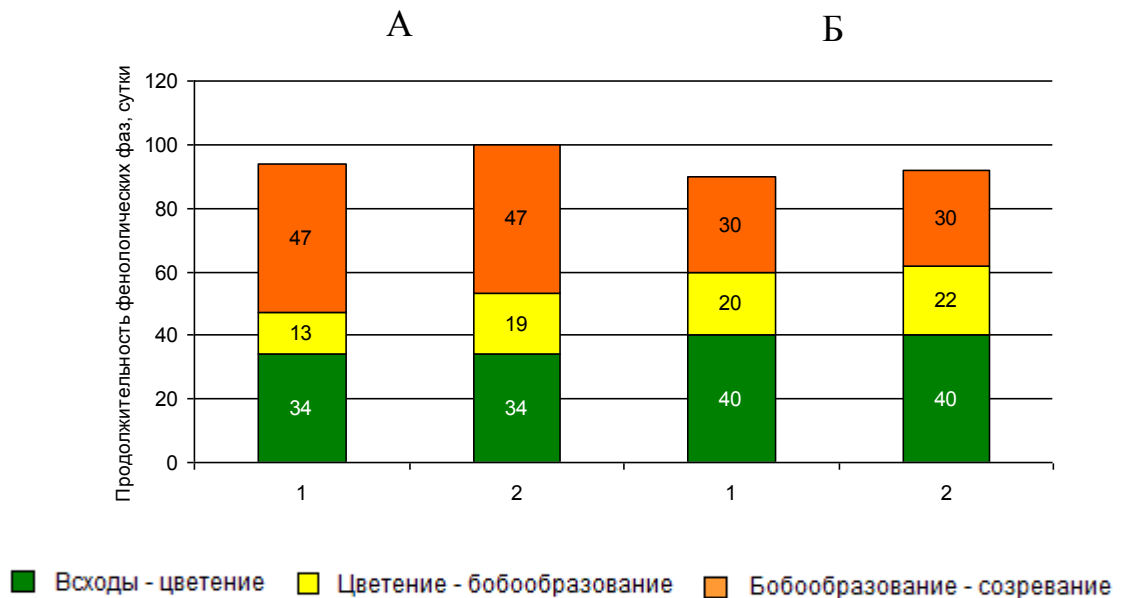


Рисунок 27 – Влияние температуры (5°C) на продолжительность фенологических фаз роста и развития сои: сорт Лидия (А), форма КА 1344 (Б), 1 – контроль; 2 – температура 5°C в течение 48 часов, среднее за 2008-2010 гг.

Воздействие температуры 5°C в фазе третьего тройчатого листа, как в течение двух, так и сорока восьми часов на растения *G. soja*, не оказало угнетающего действия на ростовые процессы, высота данных растений находится на уровне контрольных растений. Высота растений сорта Лидия в опытных вариантах уменьшилась на 8 см (табл. 23).

Низкотемпературное воздействие в фазах цветения и бобообразования в течение сорока восьми часов привело к существенному снижению высоты растений сорта Лидия на 13 и 14,5 см соответственно. У формы КА 1344 высота уменьшилась на 10 и 9 см соответственно в фазах цветения и бобообразования.

Таблица 23 – Влияние температуры (5°C) на показатели продуктивности *G. max* и *G. soja*, среднее за 2008-2010 гг.

Фенологическая фаза	Сорт (форма*) (фактор А)	Температура и время воздействия (фактор В)	Показатели продуктивности (среднее с растения)			
			высота растения, см	количество бобов, шт.	количество семян, шт.	масса семян, г
Третий тройчатый лист	Лидия	Контроль	49,7	7,0	16,0	1,7
		5°C, 2 ч	41,7	4,0	9,0	1,2
		5°C, 48 ч	41,3	4,0	7,0	1,1
	КА 1344*	Контроль	67,6	7,0	20,0	2,01
		5°C, 2 ч	66,0	6,0	14,0	1,5
		5°C, 48 ч	65,0	5,0	10,0	1,4
Цветение	Лидия	Контроль	49,7	7,0	16,0	1,7
		5°C, 2 ч	45,7	6,0	11,0	1,1
		5°C, 48 ч	36,8	3,0	6,0	0,9
	КА 1344*	Контроль	67,6	7,0	20,0	2,01
		5°C, 2 ч	62,3	6,0	13,0	0,6
		5°C, 48 ч	56,9	4,0	9,0	0,3
Бобообразование	Лидия	Контроль	49,7	7,0	16,0	1,7
		5°C, 2 ч	45,0	5,0	9,0	1,0
		5°C, 48 ч	35,2	4,0	6,0	0,6
	КА 1344*	Контроль	67,6	7,0	20,0	2,01
		5°C, 2 ч	60,1	5,0	12,0	0,4
		5°C, 48 ч	58,4	3,0	7,0	0,3
НСР <sub>0,5</sub>			1,2	1,2	1,6	0,1
НСР <sub>А</sub>			0,7	0,8	0,9	0,06
НСР <sub>В</sub>			0,5	0,5	0,7	0,04

Воздействие низкой положительной температуры (5°C) приводит к уменьшению количества бобов и семян, как у культурной, так и у дикорастущей сои. Снижение массы семян с растения отмечено у КА 1344 после воздействия низкой температуры на растения в фазах цветения и бобообразования, у культурной сои снижение массы семян отмечено во всех вариантах опыта. Выживаемость растений культурной и дикорастущей сои составила 100%.

#### **4.1.5 Адаптация и устойчивость *G. max* и *G. soja* к низкой положительной температуре с участием антиоксидантных ферментов**

При гипотермии усиливаются процессы образования АФК (Владимиров Ю.А., Арчаков А.И., 1972; McKersie B.D., 1994). Адаптация растений к низким температурам сопровождается изменениями в синтетической и гидролитической активности энзиматических систем, которые обеспечивают тонкую регуляцию процессов обмена (Петрова О.В. и др., 1985; Gülen H. et al., 2008).

Литературные данные о влиянии низких положительных температур на активность окислительно-восстановительных ферментов в растениях носят противоречивый характер. Часть исследователей считает, что низкие положительные температуры ингибируют активность окислительно-восстановительных ферментов (Кострубин М.М., 1985; Полеская О.Г., 2007; Lee D.H., Lee C.B., 2000). Однако в ряде работ отмечается повышение активности пероксидазы и каталазы при охлаждении (Кострубин М.М., 1985; Полеская О.Г., 2007; Радюк М.С. и др., 2009). Пероксидаза может понижать редуцирующую активность тканей, тем самым, повышая их устойчивость к температурным воздействиям (Арестова Н.О., 2011).

Проведенные исследования показали, что охлаждение в течение двух и сорока восьми часов вызывает существенные изменения в протекании окислительно-восстановительных процессов в листьях *G. max* и *G. soja* (Хайрулина Т.П., Тихончук П.В., Семенова Е.А., 2010). Охлаждение в течение двух часов в фазе третьего тройчатого листа вызывает рост активности пероксидазы у сорта Лидия в 2 раза, у КА 1344 – в 1,3 раза (рис. 28А, Б, прил. В, табл. В.7, 8).

Длительное охлаждение растений приводит к существенному увеличению пероксидазной активности у сорта Лидия в 5 раз, у КА 1344 – в 2,5 раза. Семисуточная репарация в естественных условиях приводит к постепенному возвращению активности пероксидазы к исходному уровню.

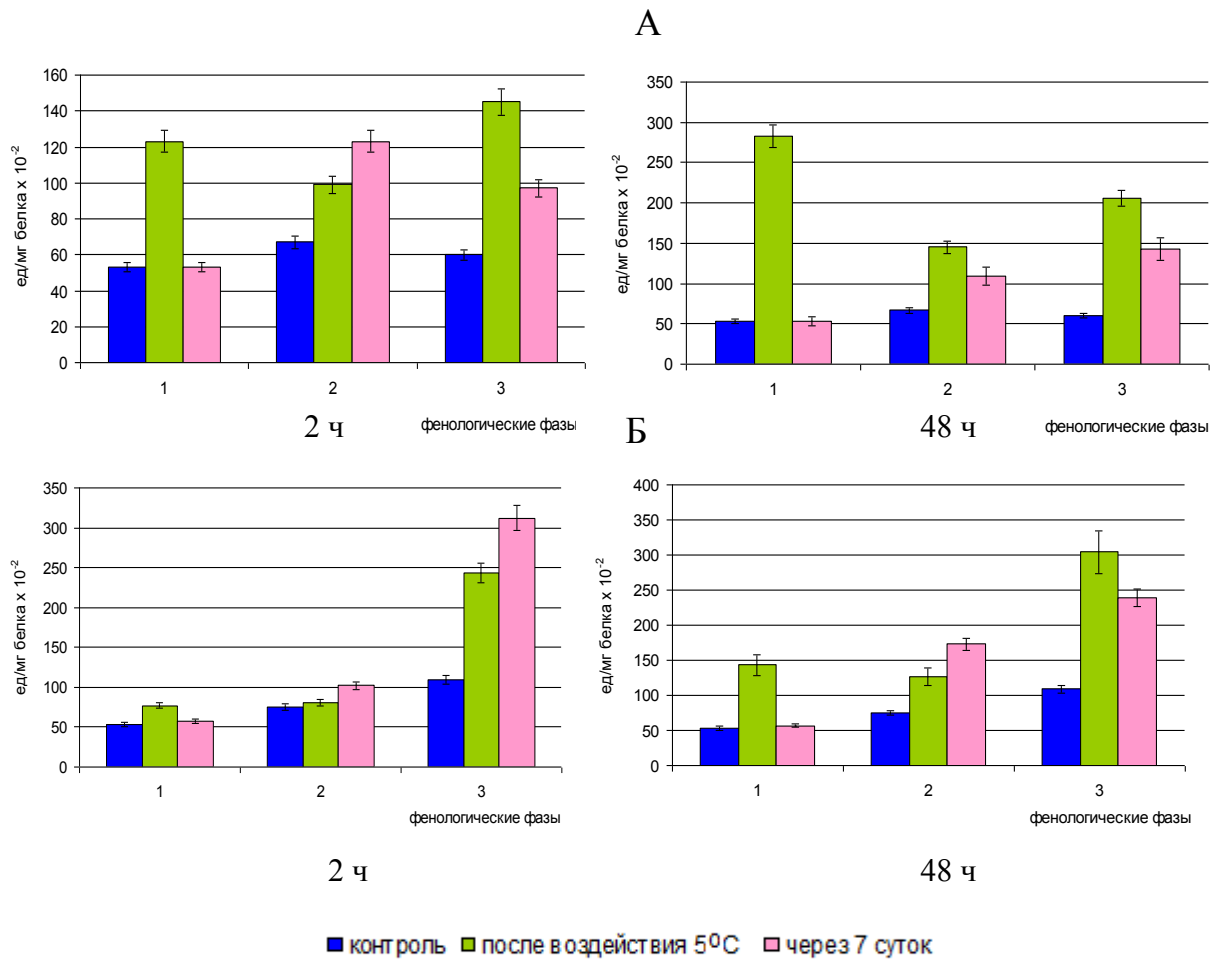


Рисунок 28 – Удельная активность пероксидазы в листьях сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) при действии температуры (5<sup>0</sup>С) в фенологические фазы:

1 – третий тройчатый лист; 2 – цветение; 3 – бобообразование,  
ед/мг белка × 10<sup>-2</sup>, среднее за 2008-2010 гг.

Кратковременное воздействие низких положительных температур на растения сои в фазе цветения способствует несущественному повышению активности фермента. Длительное воздействие холода приводит к росту активности пероксидазы в 2 раза у сорта Лидия и формы КА 1344. При действии низких положительных температур на растения сои в фазе цветения семисуточного восстановительного периода уже недостаточно для нормализации активности. В фазе образования бобов длительное воздействие низкой положительной температуры (в течение 48 часов) вызывает

существенное повышение активности пероксидазы (в 3 раза) у культурной и дикорастущей сои.

Воздействие низкой температуры ( $5^{\circ}\text{C}$ ) в фазе третьего тройчатого листа привело к росту активности каталазы в листьях *G. max*, по сравнению с контролем в 3 раза (воздействие в течение двух часов) и в 6 раз при более длительном температурном стрессе (рис. 29А, прил. В, табл. В.9).

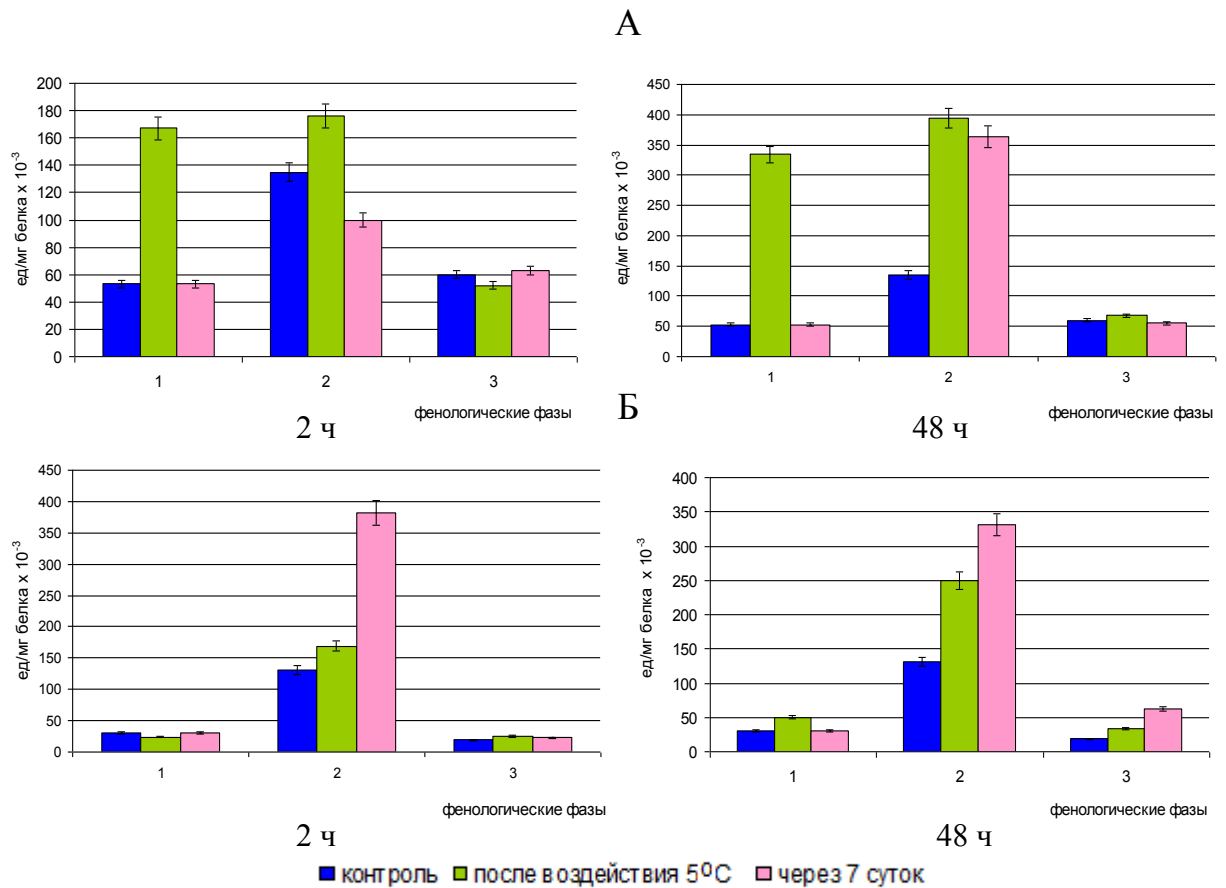


Рисунок 29 – Удельная активность каталазы в листьях сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) при действии температуры ( $5^{\circ}\text{C}$ ) в фенологические фазы: 1 – третий тройчатый лист; 2 – цветение; 3 – бобообразование, ед/мг белка  $\times 10^{-3}$ , среднее за 2008-2010 гг.

В фазе цветения кратковременное действие низкой положительной температуры увеличило активность фермента в листьях сорта Лидия в 1,3 раза, однако затем она снизилась относительно контроля. Длительное воздействие привело к более существенному повышению активности каталазы. После перевода растений в оптимальные условия активность

каталазы остается высокой, выше, чем в контроле в 2,7 раза. В фазе бобообразования воздействие низкой положительной температуры не оказало существенного влияния на активность каталазы в листьях сорта Лидия. В листьях дикорастущей формы КА 1344 только в фазе цветения отмечен рост активности каталазы по отношению к контролю в 2 раза, в остальные фенологические фазы она изменялась незначительно (рис. 29Б, прил. В, табл. В.10).

Полученные результаты позволяют заключить, что адаптация культурной и дикорастущей сои к низкой положительной температуре осуществляется за счет повышения удельной активности пероксидазы и каталазы.

В механизмах адаптации растений к неблагоприятным факторам среды немаловажную роль играют множественные молекулярные формы различных ферментов (Титов А.Ф., 1975, 1978; Воронова Н.В., 1981; Петрова О.В. и др., 1985). Кратковременное воздействие низких положительных температур в фазе третьего тройчатого листа не приводит к изменению электрофоретического спектра пероксидазы в листьях сорта Лидия и формы КА 1344 (рис. 30А, Б).

Действие низкой положительной температуры в течение сорока восьми часов на растения сои в фазы цветения и бобообразования обнаружилось сразу после его прекращения: увеличилась гетерогенность электрофоретических спектров пероксидазы за счет дополнительных компонентов, у сорта Лидия – это формы с  $R_f$  0,54 и 0,57. Большой подвижностью характеризовались электрофоретические спектры *G. soja*, воздействие низких положительных температур в течение сорока восьми часов привело к появлению дополнительных форм с  $R_f$  0,62; 0,68. Множественные молекулярные формы с  $R_f$  0,57 и 0,62 обнаруженные в электрофоретических спектрах листьев при длительном воздействии низкой температуры присутствовали на протяжении роста и развития растений.

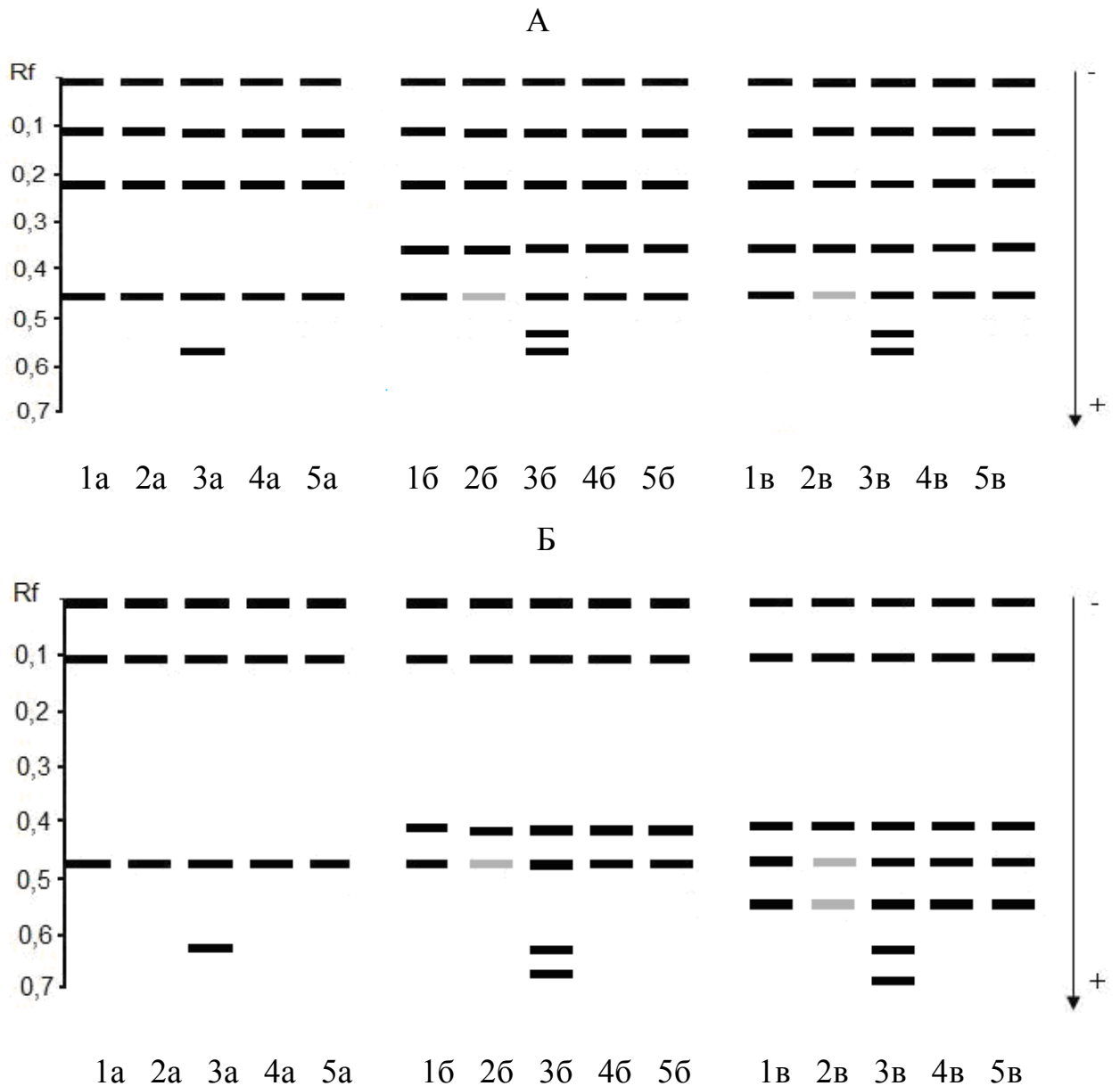


Рисунок 30 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы в листьях сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) в фенологические фазы: третий тройчатый лист (а), цветение (б), бобообразование (в), 1 – контроль; 2 – 5°C в течение 2 часов; 3 – 5°C в течение 48 часов; 4 – через 7 суток после 2-часового воздействия 5°C; 5 – через 7 суток после 48-часового воздействия 5°C

В соответствии с молекулярно-генетической гипотезой выход температуры за пределы оптимальных значений и переход в зону холодого закаливания вызывает перестройку в функциональной активности генома (Титов А.Ф., 1978). Через семь суток после воздействия низкой

положительной температуры количество множественных молекулярных форм в листьях опытных растений не отличается от контроля.

При изучении электрофоретических спектров каталазы выявлено, что контрольные образцы культурной и дикорастущей сои содержали по три компонента: с Rf 0,04; 0,26; 0,45-0,50 (сорт Лидия) и с Rf 0,04; 0,23; 0,54-0,56 (форма КА 1344) (рис. 31А, Б).

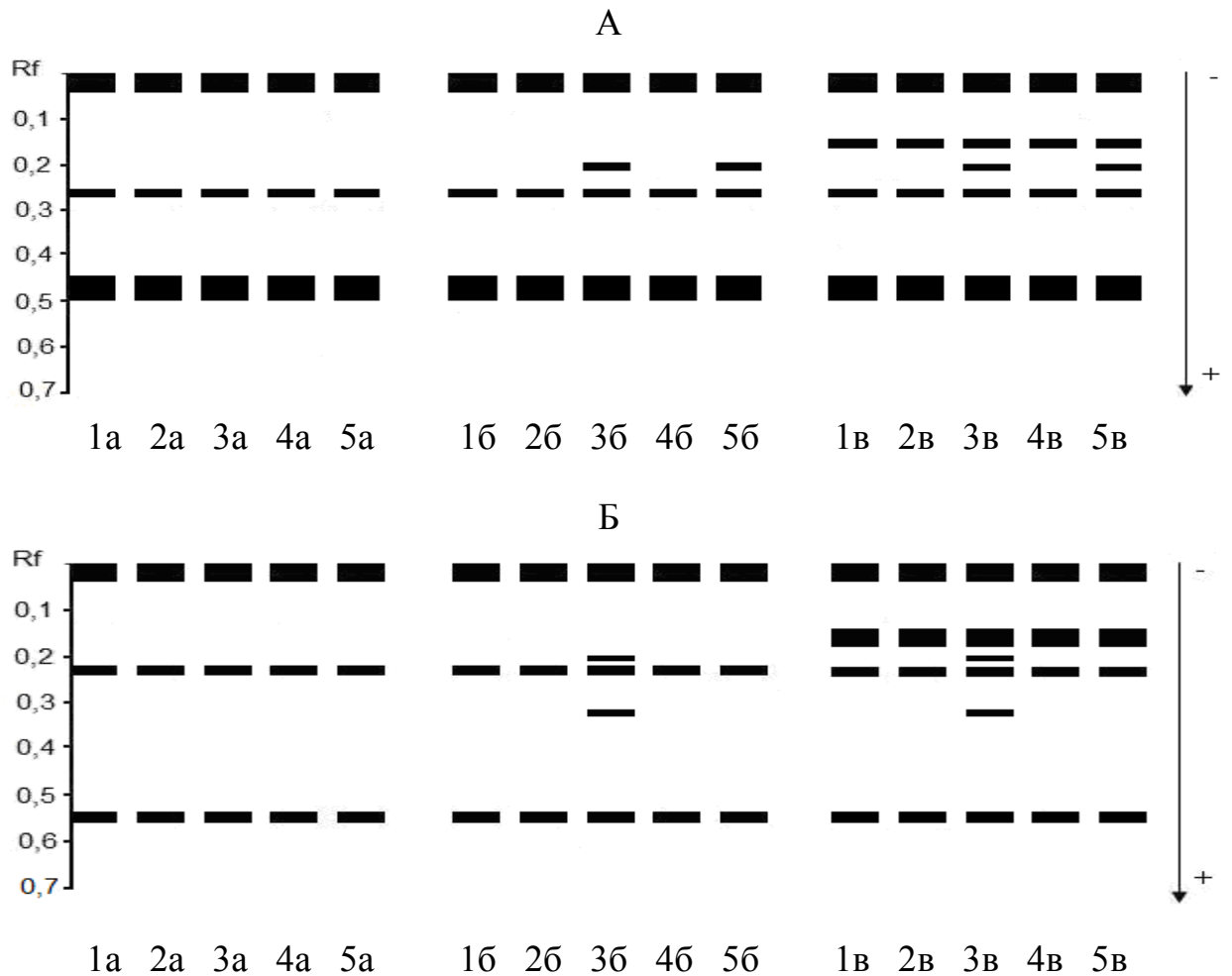


Рисунок 31 – Схемы электрофоретических спектров каталазы в листьях сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) в фенологические фазы: третий тройчатый лист (а), цветение (б), бобообразование (в), 1 – контроль; 2 – 5°C в течение 2 часов; 3 – 5°C в течение 48 часов; 4 – через 7 суток после 2-часового воздействия 5°C; 5 – через 7 суток после 48-часового воздействия 5°C

Охлаждение растений в фазе третьего тройчатого листа в течение двух и сорока восьми часов не вызывает изменения электрофоретических спектров



каталазы в листьях сои. Длительная гипотермия в фазы цветения и бобообразования приводит к увеличению гетерогенности каталазы за счет появления дополнительных компонентов у сорта Лидия (Rf 0,20) и формы КА 1344 (Rf 0,20; 0,32).

После семисуточной репарации электрофоретический спектр у дикорастущей сои аналогичен контролю, для восстановления электрофоретического спектра каталазы сорта Лидия этого времени недостаточно.

Действие низкой положительных температур на растения, как непродолжительное время (2 часа), так и в течение двух суток, повлияло на ход метаболических процессов в семенах. Активность пероксидазы в семенах культурной сои, растения которой подверглись воздействию низкой положительной температуры (5°C) в фазе третьего тройчатого листа, значительно выше, чем в контрольном варианте, в то время, как у дикорастущей сои активность фермента остается на уровне (воздействие низкой положительной температуры в течение 2 часов) или снижается в 2 раза (воздействие низкой положительной температуры в течение 48 часов) в семенах опытных растений (табл. 24, прил. В, табл. В. 11).

Гипотермия в течение двух часов не повлияла на активность пероксидазы в семенах, в то время, как длительное воздействие низкой температуры на растения способствовало снижению активности фермента в семенах. У дикорастущей формы КА 1344, наоборот, активность пероксидазы в семенах увеличивается в 1,4 раза при кратковременном воздействии и в 1,6 раза при длительном воздействии.

В семенах растений, которые подверглись воздействию низкой положительной температуры в фазе образования бобов, активность пероксидазы снижается у сорта Лидия (воздействие 48 часов), у формы КА 1344 активность остается на уровне контроля.

Таблица 24 – Удельная активность пероксидазы (ед/мг белка) и каталазы (ед/мг белка  $\times 10^{-3}$ ) в семенах сои при действии температуры (5°C) на растения по фенологическим фазам, среднее за 2008-2010 гг.

Фенологическая фаза	Сорт (форма*)	Вариант опыта	Удельная активность пероксидазы	Удельная активность каталазы
			$\bar{X} \pm S\bar{x}$	
	Лидия	Контроль	73±9	73±8
	КА 1344*	Контроль	610±37	30±2
Третий тройчатый лист	Лидия	5°C, 2 ч	95±18	40±4
		5°C, 48 ч	89±19	47±4
	КА 1344*	5°C, 2 ч	570±26	29±1
		5°C, 48 ч	347±51	23±1
Цветение	Лидия	5°C, 2 ч	62±13	77±7
		5°C, 48 ч	34±9	63±5
	КА 1344*	5°C, 2 ч	833±58	21±1
		5°C, 48 ч	964±55	27±3
Бобообразование	Лидия	5°C, 2 ч	69±13	71±4
		5°C, 48 ч	44±8	83±6
	КА 1344*	5°C, 2 ч	620±20	25±3
		5°C, 48 ч	625±46	26±1
НСР <sub>05</sub>			2,0	1,6

Примечание:  $\bar{X} \pm S\bar{x}$  – среднее арифметическое  $\pm$  ошибка среднего

Нами были проведены сравнительные исследования электрофоретических спектров пероксидазы семян сои контрольных растений и растений, которые в фазе бобообразования подверглись воздействию низкой положительной температуры (5°C). В семенах контрольных растений сорта Лидия выявлено 7 множественных молекулярных форм с пероксидазной активностью и 5 – у формы КА 1344 (рис. 32А).

Охлаждение растений сорта Лидия приводит к уменьшению компонентов со средней электрофоретической подвижностью Rf 0,46 при двухчасовом и Rf 0,54 при длительном воздействии (48 часов), но при этом появляется малоподвижная форма с Rf 0,20.

Электрофоретический спектр пероксидазы семян дикорастущей сои после воздействия низкой температуры в течение двух часов не отличался от

контроля. Более длительное воздействие привело к появлению дополнительных множественных молекулярных форм пероксидазы (Rf 0,17; 0,20; 0,25) в семенах *G. soja*.

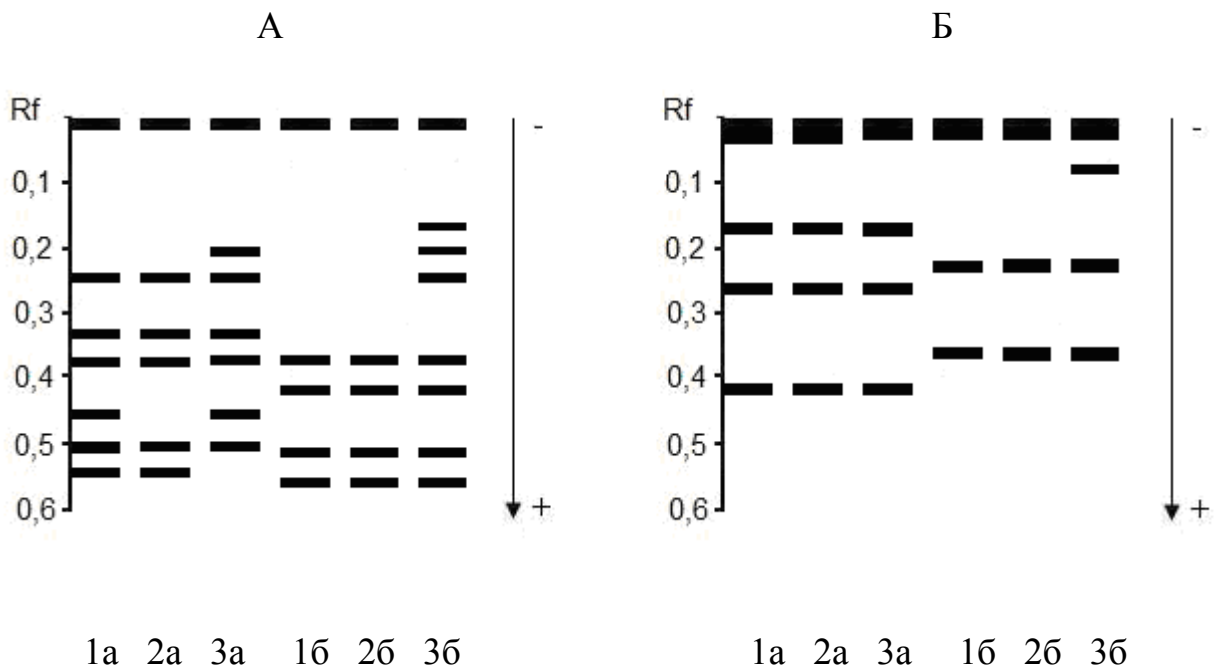


Рисунок 32 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы (А) и каталазы (Б) в семенах сорта Лидия (а) и формы КА 1344 (б) при действии температуры (5°C) на растения в фазе бобообразования: 1 – контроль; 2 – 5°C в течение 2 часов; 3 – 5°C в течение 48 часов

Охлаждение растений в течение двух часов и сорока восьми часов в фазе третьего тройчатого листа приводит к снижению активности каталазы в семенах культурной сои в 1,8 и 1,5 раза соответственно (табл. 24, прил. В, табл. В.12). Выявлено отрицательное действие низкой температуры на растения формы КА 1344 в фазе цветения и бобообразования.

Число множественных молекулярных форм каталазы в семенах контрольных растений составило 4 компонента у сорта Лидия и 3 компонента у формы КА 1344 (рис. 32Б). После воздействия низкой положительной температуры на растения культурной сои электрофоретический спектр каталазы семян по набору компонентов был идентичен контролю. В семенах опытных растений дикорастущей сои

появился дополнительный компонент с низкой подвижностью ( $R_f 0,08$ ) после продолжительного влияния низкой положительной температуры.

Таким образом, воздействие низкой положительной температуры на растения приводит к изменениям активности пероксидазы и каталазы в семенах сои, которые зависят не только от продолжительности холодового воздействия, но и от особенностей генотипов культурной и дикорастущей сои. Обнаруженные качественные и количественные перестройки электрофоретических спектров пероксидазы и каталазы в семенах сои имеют адаптивное значение и выражены сильнее у формы КА 1344.

#### **4.1.6 Влияние низкой положительной температуры на содержание низкомолекулярных антиоксидантов в листьях и семенах *G. max* и *G. soja***

Интенсивность процесса накопления низкомолекулярных антиоксидантов определяется особенностями периода вегетации, в данном случае еще и охлаждением, которому подвергались растения сои в различные фенологические фазы развития.

Воздействие на растения сорта Лидия низких положительных температур в фазах третьего тройчатого листа, цветения и бобообразования приводит к увеличению содержания аскорбиновой кислоты в листьях, особенно при длительном воздействии. В листьях дикорастущей сои также отмечено увеличение аскорбиновой кислоты, за исключением фазы бобообразования при действии  $5^{\circ}\text{C}$  в течение двух часов (табл. 25, прил. Г, табл. Г.3).

Известно, что повышение содержания аскорбиновой кислоты при пониженных температурах имеет огромное биологическое значение, так как позволяет организму противостоять вредному воздействию низких температур (Овчаров К.Е., 1969).

Таблица 25 – Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в листьях сои при действии температуры (5°C) на растения по фенологическим фазам, мг%, среднее за 2008-2010 гг.

Фенологическая фаза	Сорт (форма*)	Вариант опыта	Низкомолекулярные антиоксиданты	
			аскорбиновая кислота	каротин
			$\bar{X} \pm S\bar{x}$	
Третий тройчатый лист	Лидия	Контроль	190,7±5,0	0,07±0,001
		5°C, 2 ч	227,3±7,0	0,11±0,002
		5°C, 48 ч	252,2±4,0	0,14±0,001
	КА 1344*	Контроль	160,5±4,0	0,03±0,001
		5°C, 2 ч	196,3±1,0	0,10±0,001
		5°C, 48 ч	235,3±9,0	0,14±0,003
Цветение	Лидия	Контроль	146,2±6,0	0,05±0,001
		5°C, 2 ч	179,2±5,0	0,08±0,002
		5°C, 48 ч	219,5±5,0	0,11±0,002
	КА 1344*	Контроль	127,7±4,0	0,09±0,001
		5°C, 2 ч	143,1±5,0	0,10±0,002
		5°C, 48 ч	162,4±8,0	0,15±0,001
Бобообразование	Лидия	Контроль	137,6±6,0	0,05±0,002
		5°C, 2 ч	155,3±11,0	0,10±0,003
		5°C, 48 ч	165,0±8,0	0,13±0,002
	КА 1344*	Контроль	171,6±5,0	0,05±0,001
		5°C, 2 ч	160,1±3,0	0,09±0,001
		5°C, 48 ч	173,7±5,0	0,11±0,002
НСР <sub>05</sub>			0,4	0,01

Примечание:  $\bar{X} \pm S\bar{x}$  – среднее арифметическое  $\pm$  ошибка среднего

Низкие температуры приводят к увеличению биосинтеза каротина в листьях дикорастущей сои формы КА 1344, максимальный рост каротина ( $\approx$  в 5 раз) отмечен в фазе третьего тройчатого листа после действия охлаждения в течение сорока восьми часов.

Действие низкой положительной температуры в течение всего периода вегетации способствовало росту количества низкомолекулярных антиоксидантов в семенах (Хайрулина Т.П., Семенова Е.А., 2013). Выдерживание растений при 5°C привело к увеличению аскорбиновой кислоты в семенах сои. Максимальное количество аскорбиновой кислоты отмечено у сорта Лидия при воздействии низкой положительной

температуры в фазе третьего тройчатого листа, а у формы КА 1344 – в фазе цветения (табл. 26, прил. Г, табл. Г.4).

Таблица 26 – Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в семенах сои при действии температуры (5°C) на растения по фенологическим фазам, мг%, среднее за 2008-2010 гг.

Фенологическая фаза	Сорт (форма*)	Вариант опыта	Низкомолекулярные антиоксиданты		
			аскорбиновая кислота	каротин	токоферол
			$\bar{X} \pm S\bar{x}$		
	Лидия	Контроль	13,0±5,0	0,09±0,0004	30,0±0,04
	КА 1344*	Контроль	22,0±2,2	0,10±0,001	26,0±0,02
Третий тройчатый лист	Лидия	5°C, 2 ч	17,2±4,1	0,14±0,001	94,0±0,04
		5°C, 48 ч	22,7±6,0	0,30±0,01	121,7±0,07
	КА 1344*	5°C, 2 ч	32,4±2,0	0,44±0,004	64,6±0,03
		5°C, 48 ч	39,4±4,0	0,80±0,03	112,0±0,03
Цветение	Лидия	5°C, 2 ч	14,9±4,0	0,16±0,002	169,7±0,02
		5°C, 48 ч	18,5±6,0	0,61±0,01	23,0±0,02
	КА 1344*	5°C, 2 ч	35,7±5,0	0,15±0,001	129,3±0,04
		5°C, 48 ч	75,6±4,0	1,60±0,01	29,5±0,02
Бобообразование	Лидия	5°C, 2 ч	17,0±4,0	0,08±0,002	35,7±0,02
		5°C, 48 ч	20,7±5,0	0,21±0,001	27,3±0,02
	КА 1344*	5°C, 2 ч	33,2±2,0	0,26±0,01	40,3±0,04
		5°C, 48 ч	44,1±5,0	0,82±0,01	31,7±0,04
НСР <sub>05</sub>			0,2	0,02	1,7

Примечание:  $\bar{X} \pm S\bar{x}$  – среднее арифметическое  $\pm$  ошибка среднего

Полученные результаты согласуются с данными других авторов (Овчаров К.Е., 1969), которые отмечают высокую концентрацию витамина С в период понижения температур. Следовательно, накопление аскорбиновой кислоты свидетельствует не только об интенсивности окислительно-восстановительных процессов, но также об устойчивости сорта Лидия и формы КА 1344 к низким температурам.

Из данных, представленных в таблице 26, видно, что после холодового воздействия уровень каротина в семенах опытных растений выше, чем в контрольном варианте в 3 и более раза. Поскольку  $\beta$ -каротин принимает

непосредственное участие в «тушении» синглетного кислорода и ингибировании его образования, то содержание этого антиоксиданта определяет чувствительность к холоду (Кошкин Е.И., 2010). Полученные результаты свидетельствуют о холодоустойчивости изучаемых генотипов сои.

После кратковременного действия низкой температуры в фазе цветения отмечен максимальный уровень токоферола в семенах *G. max* и *G. soja*, который в 5-6 раз выше, чем в семенах контрольных растений, длительное воздействие низкой температуры не привело к накоплению токоферола в семенах.

В результате проведенных исследований установлено увеличение содержания аскорбиновой кислоты в листьях и семенах *G. max* и *G. soja*, особенно при длительном воздействии (в течение 48 часов) температуры 5°C. Наибольшее увеличение аскорбиновой кислоты в листьях выявлено у сорта Лидия, а в семенах – у формы КА 1344. По-видимому, существенное накопление аскорбиновой кислоты и каротина при гипотермии способствует формированию у растительного организма устойчивости к низким температурам. Высокое содержание токоферола в семенах *G. max* и *G. soja* отмечено при кратковременном воздействии низкой температуры на растения в фазе цветения.

#### **4.2 Адаптация и устойчивость *G. max* и *G. soja* к избыточному и недостаточному увлажнению почвы с участием антиоксидантной системы**

Значение воды в жизни растений огромно. Растения подвергаются как дефициту, так и избытку влаги в почве. Почвенная засуха нередко является следствием атмосферной засухи. Засуха является одним из основных факторов окружающей среды, ингибирующих многие метаболические

процессы и, в итоге, лимитирующих рост и урожайность растений (Пустовойтова Т.Н., Жалкевич В.Н., 1992; Chaves M.M., Oliveira M.M., 2004).

Недостаток влаги уменьшает интенсивность фотосинтеза и транспирации и повышает уровень дыхания (Жученко А.А., 2001), нарушает структуру зеленых пластид (Тарчевский И.А., 1964), снижает содержание углеводов в листьях (Жученко А.А., 2001), подавляет синтез белков и хлорофилла, усиливает накопление токсичных продуктов их распада (Hsiao T.C., 1973), изменяет активность ферментов (Николаева М.К. и др., 2010; Garcia, A.L. et al., 1987; Srivalli B., Sharma G., Khanna-Chopra R., 2003; Luna C.M. et al, 2004; Salekjalali M., Haddad R., Jafari B., 2012; Hameed A., Goher M., Iqbal N., 2013). Однако ответ ферментов антиоксидантной защиты зависит от чувствительности вида и сорта растений (Ashraf M.Y., et al., 1995; Ünyayar S., Keles Y., Cekic F.Ö., 2005; Lizana C. et al., 2006). При продолжительной и сильной засухе происходит депрессия активности хлоропластов и ферментов (Yordanov I., Velikova V., Tsonev T., 2003).

Переувлажнение почвы отрицательно сказывается на продуктивности сельскохозяйственных культур, сравнимые с потерями от засухи. При избыточном увлажнении почвы растения испытывают действие анаэробноза, который снижает активность процесса синтеза органических веществ, нарушает водный режим растений (Климов С.В., 2008).

В условиях почвенного переувлажнения дефицит кислорода является главным фактором, лимитирующим метаболические процессы в корнях растений. При этом надземные органы растений не испытывают недостатка кислорода, и влияние почвенной гипоксии на них осуществляется опосредованно через нарушение кооперативных связей с корневой системой на уровне транспорта метаболитов и физиологически активных соединений (Гринева Г.М., 1975).

Водный стресс, как и другие абиотические стрессы, приводит к усиленному образованию АФК (Мерзляк М.Н., 1989; Полесская О.Г., 2007; Foyer C.H., Noctor G., 2005). Интенсивность воздействия экстремальных



факторов на обмен веществ растений определяется изменением активности ферментов, имеющих отношение к развитию стрессовых реакций, возникающих при адаптации растений к данному фактору (Калашников Ю.Е., Балахнина Т.И., Закржевский, 1994; Николаева М.К. и др., 2010; Alscher R.G., Donahue J.L., Cramer C.L., 1997; Esfandiari E. et al., 2008; Lee, B.R., 2009; Kavas M. et al., 2013; Fan H.-F. et al., 2014).

В ряде случаев для преодоления негативного действия водного стресса индуцируется синтез новых изоферментов (Srivalli B. et al., 2003). При изучении влияния водного стресса на компонентный состав пероксидазы листьев и корней проростков кукурузы обнаружено, что при различной степени обезвоженности не синтезируются новые изоферменты. Более того, в листьях одного из сортов из спектра исчезла полоса с низкой электрофоретической подвижностью. У одних сортов кукурузы при увеличении водного стресса активность пероксидазы повышалась, у других – снижалась (Сарсенбаев К.Н., 1986; Thakur P.S. et al., 1981).

Ответ ферментов антиоксидантной защиты на водный стресс у разных объектов зависит от чувствительности вида и сорта растений, а также фазы развития (Ünyayar S., Kele Y., Sekic F.O., 2005; Lizana C. et al., 2006; Harish C. et al., 2010).

В условиях почвенной засухи компонентный состав и термостабильность пероксидазы изменяются. У засухоустойчивого сорта яровой пшеницы Пиротрикс пероксидазный комплекс быстрее приспосабливается к засухе. При засухе термоустойчивость пероксидазы листьев выше в средней части (Сарсенбаев К.Н., 1986).

Ю.Е. Калашников с соавторами (1994) изучали влияние почвенной гипоксии на образование  $H_2O_2$  и активность ферментов защиты от окислительной деструкции в корнях и листьях ячменя. Прирост уровня эндогенной  $H_2O_2$  коррелировал с изменением активности супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, пероксидазы и каталазы.

Нормальный водный режим создает благоприятные условия для биохимических реакций в растительном организме, что обеспечивает высокую продуктивность растений. Нарушение водного баланса приводит к глубоким расстройством обмена, торможению ростовых процессов и снижению урожая (Хван А.В., 1969). Являясь составной и важной частью обмена веществ, витамины разносторонне влияют на жизнедеятельность растений.

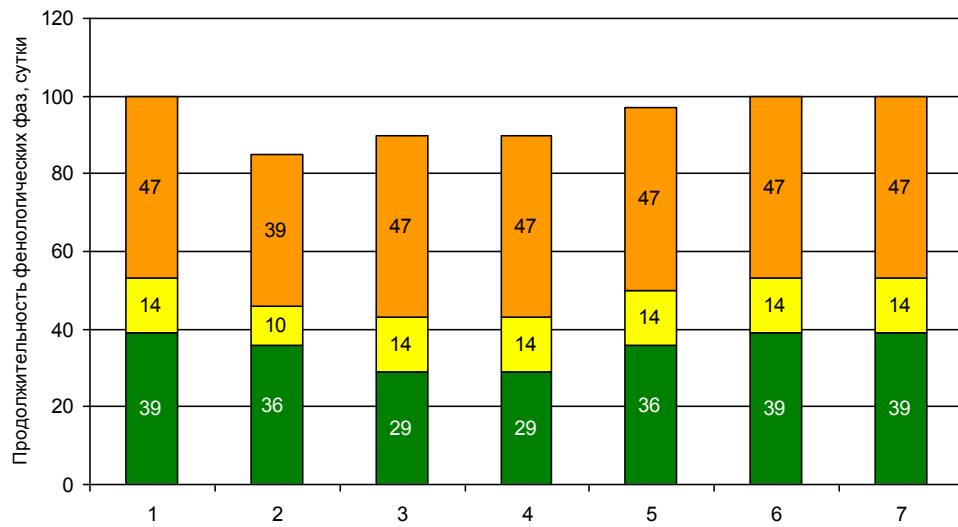
При недостатке влаги снижается содержание аскорбиновой кислоты не только в листьях и плодах, но и в клубнях (Овчаров К.Е., 1969). Избыток влаги в почве во все периоды вегетации оказывает угнетающее действие на содержание аскорбиновой кислоты и каротина в семенах сои (Хван А.В., 1969).

Таким образом, важная роль в адаптации растений к избыточному и недостаточному увлажнению отводится антиоксидантной системе. К которой принадлежат ферменты каталаза и пероксидаза, участвующие в детоксикации  $H_2O_2$ , а также аскорбиновая кислота, каротин и токоферол, прерывающие цепные реакции окисления. Однако в литературе недостаточно данных об участии антиоксидантных ферментов и низкомолекулярных антиоксидантов в процессах адаптации сои к переувлажнению и недостатку влаги в почве в разные периоды вегетации.

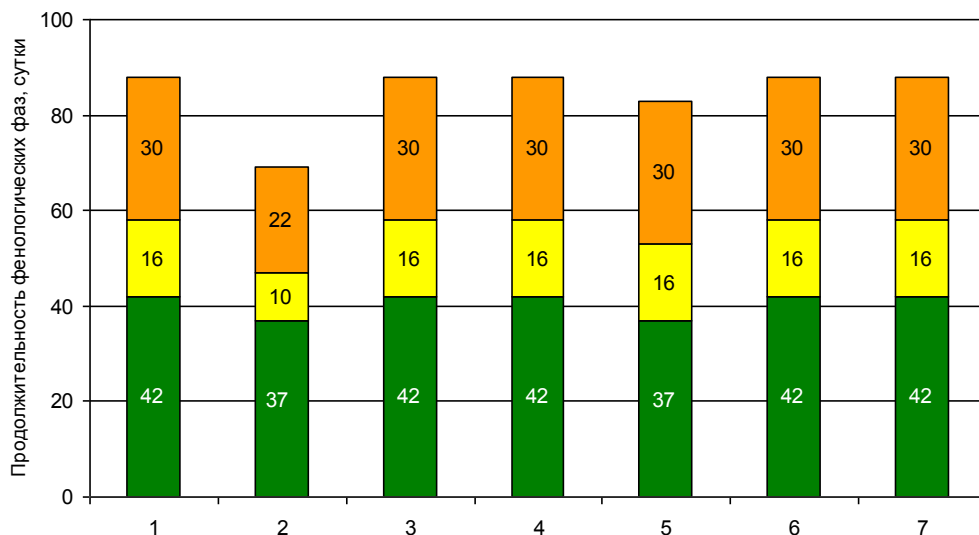
#### **4.2.1 Влияние избыточного и недостаточного увлажнения почвы на рост, развитие и показатели продуктивности *G. max* и *G. soja***

Избыточное и недостаточное увлажнение почвы оказывает влияние на рост, развитие растений и урожайность сои (Калашников Ю.Е. и др., 1994; Ku Y.-Sh. et al., 2013). Наши исследования показали, что в условиях с разной влажностью почвы прохождение основных фенологических фаз у культурной и дикорастущей сои различно (рис. 33).

А



Б



■ Всходы - цветение    ■ Цветение - бобообразование    ■ Бобообразование - созревание

Рисунок 33 – Влияние различного уровня влажности почвы на продолжительность фенологических фаз роста и развития сои: сорт Лидия (А) и форма КА 1344 (Б), 1 – контроль (70% ПВ); 2 – 135% ПВ весь период; 3 – 35% ПВ весь период; 4 – 35% ПВ до цветения, затем 70%; 5 – 135% ПВ до цветения, затем 70%; 6 – 70% ПВ до цветения, затем 35%; 7 – 70% ПВ до цветения, затем 135%, среднее за 2008-2010 гг.

Так, в вариантах с оптимальной влажностью (1, 6 и 7) продолжительность периода «всходы – цветение» у сорта Лидия составляет

39 суток, у дикорастущей формы КА 1344 – 42 суток. В варианте 2 и 5 с переувлажненной почвой, как у сорта Лидия, так и у формы КА 1344, данный период сокращается на 3-5 суток соответственно. Недостаток влаги в почве (варианты 3 и 4) привел к сокращению продолжительность периода «всходы – цветение» у сорта Лидия на 10 суток, у формы КА 1344 продолжительность данного периода соответствовала контролю.

Продолжительность периода «цветение – образование бобов» во втором варианте (135% ПВ), у культурной и дикорастущей сои составляла до 10 суток, в остальных вариантах опыта отличий от контрольного варианта не наблюдалось, и составляла 14 суток (сорт Лидия) и 16 суток (форма КА 1344). В варианте опыта, где переувлажнение почвы поддерживалось в течение всей вегетации, период «бобообразование – созревание семян» сократился у культурной и дикорастущей сои на 8 суток. Также в ходе фенологических наблюдений было отмечено преждевременное пожелтение и опадание листьев в данном варианте, у *G. soja* несколько раньше, чем у *G. max*, дозревание семян шло без наличия листьев. В остальных вариантах опыта отличий от контрольного варианта не выявлено.

Таким образом, переувлажнение почвы весь период вегетации сокращает продолжительность вегетативного и генеративного периодов у *G. max* и у *G. soja*. Недостаток влаги сокращает лишь продолжительность вегетативного периода у сорта Лидия.

Растения реагируют на действие неблагоприятных факторов системно, то есть изменением целого ряда параметров, по которым можно судить об уровне устойчивости. Как недостаток, так и избыток воды в почве оказывают влияние на формирование хозяйственно-ценных признаков растений, в частности сои. Наибольшая высота растений сорта Лидия и формы КА 1344 установлена в вариантах с переувлажнением почвы (135% ПВ) (табл. 27).

Таблица 27 – Влияние различном уровне влажности почвы на показатели продуктивности *G. max* и *G. soja*, среднее за 2008-2010 гг.

Вариант опыта (фактор В)	Сорт (форма*) (фактор А)	Показатели продуктивности (среднее с растения)			
		высота расте- ний, см	количество бобов, шт.	количество семян, шт.	масса семян, г
Контроль – 70% ПВ	Лидия	51,0	9,7	20,5	3,2
	КА 1344*	111,1	11,0	15,7	1,0
135% ПВ – весь период вегетации	Лидия	82,8	11,7	23,4	2,4
	КА 1344*	115,5	28,3	55,9	1,0
35% ПВ – весь период вегетации	Лидия	51,1	4,7	10,5	1,3
	КА 1344*	80,3	4,7	8,4	0,5
35% ПВ – всходы - цветение, затем 70% ПВ	Лидия	50,8	7,3	10,6	1,7
	КА 1344*	77,6	9,7	14,1	0,7
135% ПВ – всходы - цветение, затем 70% ПВ	Лидия	74,7	9,0	13,0	1,8
	КА 1344*	102,80	9,7	14,6	0,5
70% ПВ – всходы - цветение, затем 35% ПВ	Лидия	52,3	5,0	9,2	1,4
	КА 1344*	80,7	11,0	22,4	0,8
70% ПВ – всходы - цветение, затем 135% ПВ	Лидия	77,8	7,7	17,9	2,6
	КА 1344*	97,7	12,7	29,1	0,8
	НСР <sub>05</sub>	0,5	0,9	0,5	0,3
	НСР <sub>А</sub>	0,2	0,4	0,2	0,1
	НСР <sub>В</sub>	0,3	0,7	0,3	0,2

Растения формы КА 1344 в вариантах опыта с недостатком почвенной влаги (35% ПВ) значительно ниже контрольных, высота растений сорта Лидия находится на уровне контрольного варианта. Перевод растений из одной влажности почвы на другую оказывает существенное влияние на рост сои, особенно из затопления на оптимальную влажность (вариант 5). У сорта

Лидия рост резко усиливается, растения выше контрольных, у формы КА 1344, наоборот, растения остаются на уровне контрольного варианта

По данным Е.И. Кошкина (2010), у сои при дефиците влаги во время цветения и формирования бобов снижается количество бобов и семян на растении. Дефицит влаги в большей степени отрицательно повлиял на формирование количества бобов на растении, чем избыточное переувлажнение почвы. Хотя известно, что переувлажнение почвы вызывает условия гипоксии или аноксии в корнеобитаемой зоне. У формы КА 1344 во втором варианте (135% ПВ) установлено значительное увеличение количества бобов по сравнению с контрольным вариантом в 3,5 раза. Растения сои легче переносят избыточное увлажнение весь период в связи с переходом на анаэробный тип обмена (табл. 27).

Переувлажнение почвы способствовало формированию семян с меньшей массой у сорта Лидия. Масса семян с растения у сорта Лидия на 25% меньше, чем в контроле, у дикорастущей сои – на уровне контроля. Недостаточное увлажнение почвы (35% ПВ) привело к снижению массы семян на 41% у сорта Лидия и на 50% у формы КА 1344.

Таким образом, Переувлажнение весь период вегетации способствовало увеличению количества бобов и семян на растении, при этом масса семян снижается, но только у сорта Лидия, у дикорастущей сои она такая же, как в контроле. Недостаточное увлажнение весь период вегетации приводит к существенному снижению показателей продуктивности у *G. max* и *G. soja*.

#### **4.2.2 Адаптация и устойчивость *G. max* и *G. soja* к избыточному и недостаточному увлажнению почвы с участием антиоксидантных ферментов**

Недостаточное и избыточное увлажнение почвы неблагоприятно сказывается на протекании целого ряда физиолого-биохимических процессов

в растении. В результате проведенных исследований были установлены изменения активности ферментов-детоксикаторов АФК в листьях сои (Хайрулина Т.П., Тихончук П.В., Семенова Е.А., 2010). Выращивание растений сои в условиях недостаточного и избыточного увлажнения почвы приводит к повышению активности пероксидазы в листьях. Самая высокая активность пероксидазы в листьях *G. max* отмечена в варианте с недостаточным увлажнением почвы за весь период вегетации. Активность пероксидазы у сорта Лидия в третьем и четвертом вариантах была в 4-4,5 раза выше, чем в контроле. У дикорастущей сои под влиянием недостаточного увлажнения активность пероксидазы увеличивается в 1,3 раза (табл. 28, прил. Д, табл. Д.1, Д.2). Полученные результаты согласуются с данными других авторов, которые отметили возрастание активности ферментов антиоксидантной защиты на ранних стадиях водного дефицита (Baisak R. et al., 1994).

Таблица 28 – Удельная активность пероксидазы в листьях сои при различном уровне влажности почвы, ед/мг белка  $\times 10^{-2}$ , среднее за 2008-2010 гг.

Вариант опыта *	Фенологическая фаза					
	третий тройчатый лист		цветение		бобообразование	
	Лидия	КА 1344	Лидия	КА 1344	Лидия	КА 1344
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$	
1	44 ± 1	81 ± 4	158 ± 6	45 ± 2	187 ± 4	98 ± 1
2	102 ± 3	68 ± 2	267 ± 7	62 ± 1	153 ± 3	109 ± 3
3	186 ± 2	109 ± 4	354 ± 8	101 ± 4	653 ± 18	210 ± 2
4	197 ± 1	113 ± 2	368 ± 8	86 ± 2	291 ± 3	137 ± 1
5	142 ± 2	107 ± 2	253 ± 6	65 ± 2	207 ± 1	119 ± 2
6	41 ± 1	108 ± 3	152 ± 4	59 ± 2	530 ± 2	141 ± 3
7	48 ± 1	107 ± 3	174 ± 8	48 ± 1	263 ± 5	139 ± 3
НСР <sub>05</sub>	1,47	1,89	1,65	1,80	2,14	1,04

Примечание: \*1 – контроль (70% ПВ); 2 – 135% ПВ весь период; 3 – 35% ПВ весь период; 4 – 35% ПВ до цветения, затем 70%; 5 – 135% ПВ до цветения, затем 70%; 6 – 70% ПВ до цветения, затем 35%; 7 – 70% ПВ до цветения, затем 135%;  $\bar{X} \pm S\bar{x}$  – среднее арифметическое  $\pm$  ошибка среднего

В варианте с избыточным увлажнением в листьях сорта Лидия активность фермента также увеличивается, однако у формы КА 1344 активность пероксидазы была ниже контроля. В фазе цветения в листьях культурной и дикорастущей сои, испытывающих воздействие недостаточного или избыточного увлажнения, активность пероксидазы увеличивается. Повышенное образование АФК подтверждается реакцией системы защиты клетки от окислительной деструкции, выражающееся в росте активности пероксидазы в листьях сои.

Увеличение активности пероксидазы в вариантах с переувлажнением связано с необходимостью разрушения накапливающихся продуктов анаэробного обмена, в том числе и фенольных соединений. Кроме того, в анаэробных условиях пероксидаза способна катализировать образование молекулярного кислорода при разложении перекиси, что имеет важное значение в адаптации к кислородной недостаточности (Ласточкин В.В., 2005).

По некоторым вариантам опыта в фазе образования бобов отмечен рост активности пероксидазы. В условиях почвенной засухи в листьях сои наблюдается существенное активирование пероксидазы: у сорта Лидия в 3,5 раза, у формы КА 1344 в 2 раза. Перевод растений на оптимальную влажность почвы (варианты 4 и 5) способствовал снижению активности пероксидазы в листьях культурной и дикорастущей сои, однако она выше, чем в контроле. Восстановительный период оказался недостаточным для нормализации окислительно-восстановительных процессов. В шестом и седьмом вариантах, где также после цветения произошла смена влажности почвы, активность пероксидазы в листьях *G. max* увеличилась в 2,8 и 1,4 раза соответственно по сравнению с контролем, у *G. soja* – в 1,4 раза по сравнению с контролем.

Другой фермент антиоксидантной защиты, предотвращающий накопление в клетке перекиси водорода, – каталаза (Luna С.М. et al., 2004). В отличие от пероксидаз, которые функционируют только при относительно



низком уровне пероксида, каталаза способна эффективно работать при высокой его концентрации (Кошкин Е.И., 2010). Существенный рост удельной активности каталазы наблюдается у *G. max* и *G. soja* в вариантах с переувлажнением. В фазе третьего тройчатого листа у культурной сои активность каталазы в вариантах с переувлажнением выше контроля в 1,7 и 2,9 раза, у дикорастущей формы КА 1344 – увеличивается в 2 раза (табл. 29, прил. Д, табл. Д.3, Д.4). В фазе цветения при переувлажнении в почве показатели активности каталазы в листьях *G. max* выше контрольного варианта. Согласно литературным данным (Хван А.В., 1977), переувлажнение почвы усиливает активность каталазы во всех органах сои, особенно в листьях. В третьем и четвертом вариантах, где растения испытывали недостаток почвенной влаги, активность каталазы чуть выше, чем в контрольном варианте у *G. max*, или остается на уровне контроля у *G. soja*.

Таблица 29 – Удельная активность каталазы в листьях сои при различном уровне влажности почвы, ед/мг белка  $\times 10^{-3}$ , среднее за 2008-2010 гг.

Вариант опыта *	Фенологическая фаза					
	третий тройчатый лист		цветение		бобообразование	
	Лидия	КА 1344	Лидия	КА 1344	Лидия	КА 1344
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$	
1	48 ± 5	24 ± 2	438 ± 8	520 ± 5	163 ± 6	124 ± 2
2	82 ± 3	49 ± 2	869 ± 24	1300 ± 6	1010 ± 27	182 ± 3
3	48 ± 2	38 ± 3	456 ± 12	617 ± 3	270 ± 6	94 ± 2
4	47 ± 2	39 ± 1	486 ± 7	753 ± 3	150 ± 4	120 ± 6
5	138 ± 2	48 ± 2	808 ± 6	1326 ± 4	1031 ± 30	122 ± 1
6	49 ± 3	45 ± 2	352 ± 2	447 ± 4	753 ± 29	111 ± 2
7	36 ± 2	43 ± 3	481 ± 3	343 ± 1	1060 ± 11	192 ± 2
НСР <sub>05</sub>	1,64	1,63	1,85	1,85	1,44	1,75

Примечание: \*1 – контроль (70% ПВ); 2 – 135% ПВ весь период; 3 – 35% ПВ весь период; 4 – 35% ПВ до цветения, затем 70%; 5 – 135% ПВ до цветения, затем 70%; 6 – 70% ПВ до цветения, затем 35%; 7 – 70% ПВ до цветения, затем 135%;  $\bar{X} \pm S\bar{x}$  – среднее арифметическое  $\pm$  ошибка среднего

В фазе образования бобов переувлажнение почвы за весь период вегетации способствует росту активности каталазы в листьях сои. Смена недостаточного увлажнения почвы на оптимальное (4 вариант) приводит к снижению активности каталазы у сорта Лидия, у *G. soja* увеличивается и достигает контроля. Интенсивность репарационных процессов после прекращения действия стрессовых факторов коррелирует со степенью устойчивости растений (Удовенко Г.В., 1977). В шестом и седьмом вариантах, несмотря на смену условий выращивания, активность каталазы изменяется незначительно у дикорастущей сои и значительно увеличивается в 4,6 и 6,5 раз соответственно в листьях культурной сои.

На рисунке 34 представлены электрофоретические спектры пероксидазы листьев *G. max* и *G. soja* после действия избыточного и недостаточного увлажнения в разные фазы развития сои. Под влиянием избыточного увлажнения (2, 5 варианты) увеличивается гетерогенность электрофоретического спектра за счет появления дополнительных множественных форм с Rf 0,52 у сорта Лидия и Rf 0,50 у формы КА 1344. В третьем и четвертом вариантах (35% ПВ) у *G. max* количество компонентов пероксидазы, по сравнению с контролем, уменьшается – исчезает форма с Rf 0,21, у *G. soja* изменений не наблюдается.

Ранее было установлено (Семенова Е.А., Тихончук П.В., 2008), что количество множественных форм в онтогенезе листа сои увеличивается. У сорта Лидия в фазе цветения, не только в контроле, но и в опытных вариантах, появляется форма пероксидазы со средней электрофоретической подвижностью (Rf 0,35).

Продолжительное действие избыточного увлажнения (вариант 2) вызвало более глубокие изменения в электрофоретическом спектре пероксидазы у *G. max* и *G. soja*. Основную роль в формировании устойчивости к переувлажнению почвы играют формы пероксидазы с Rf 0,60; 0,76.

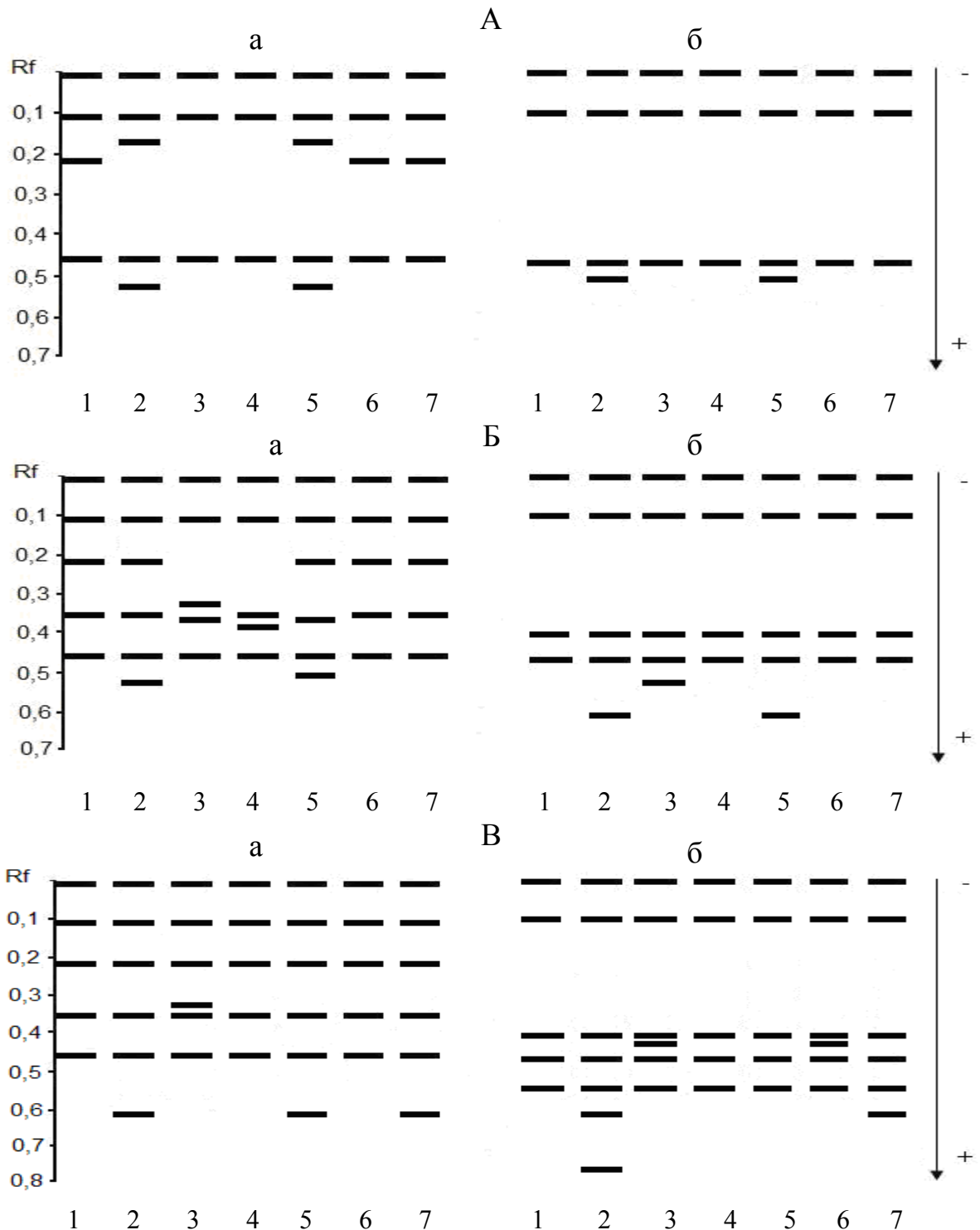


Рисунок 34 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы в листьях сорта Лидия (а) и формы КА 1344 (б) при различном уровне влажности почвы в фенологические фазы: третий тройчатый лист (А), цветение (Б), бобообразование (В), 1 – контроль (70% ПВ); 2 – 135% ПВ весь период; 3 – 35% ПВ весь период; 4 – 35% ПВ до цветения, затем 70%; 5 – 135% ПВ до цветения, затем 70%; 6 – 70% ПВ до цветения, затем 35%; 7 – 70% ПВ до цветения, затем 135%

В варианте с водным дефицитом форм пероксидазы с высокой электрофоретической подвижностью не выявлено, отмечено появление дополнительных форм со средней электрофоретической подвижностью  $R_f$  0,32; 0,43. После перевода растений на оптимальную влажность почвы в четвертом варианте количество множественных молекулярных форм находится на уровне контроля, в пятом варианте – у сорта Лидия присутствует высокоподвижный компонент, остальные формы имеют  $R_f$ , одинаковую с контролем.

В случае, когда растения сои подвергались недостаточному увлажнению с фазы цветения (вариант 6), электрофоретический спектр листьев сорта Лидия не отличался от контроля, а у дикорастущей сои – был такой же, как при дефиците влаги в течение всей вегетации. В седьмом варианте у обоих видов сои присутствовала форма с  $R_f$  0,60, а подвижность остальных находилась на уровне контроля. Обнаруженные изменения электрофоретических спектров пероксидазы имеют адаптивное значение и выражены они сильнее у более устойчивой дикорастущей сои.

Длительное переувлажнение (вариант 2) способствовало усложнению электрофоретического спектра каталазы в фазе бобообразования: появляется форма с  $R_f$  0,21 (сорт Лидия) и  $R_f$  0,32; 0,40 (форма КА 1344), что является защитной реакцией растений на воздействие избыточного увлажнения (рис. 35). Дефицит влаги в течение всего вегетационного периода (вариант 3) влияет на гетерогенность электрофоретических спектров. Недостаток влаги приводит к уменьшению числа множественных молекулярных форм каталазы в листьях сои, особенно у сорта Лидия.

Смена недостаточного и избыточного увлажнения почвы на оптимальное оказало положительное влияние на биохимические процессы в растениях сои. В четвертом и пятом вариантах электрофоретический спектр каталазы у *G. soja* не отличается от контроля, однако у *G. max* даже после восстановительного периода форма с  $R_f$  0,50 (вариант 4) отсутствует, остальные имеют  $R_f$  аналогичную с контролем.

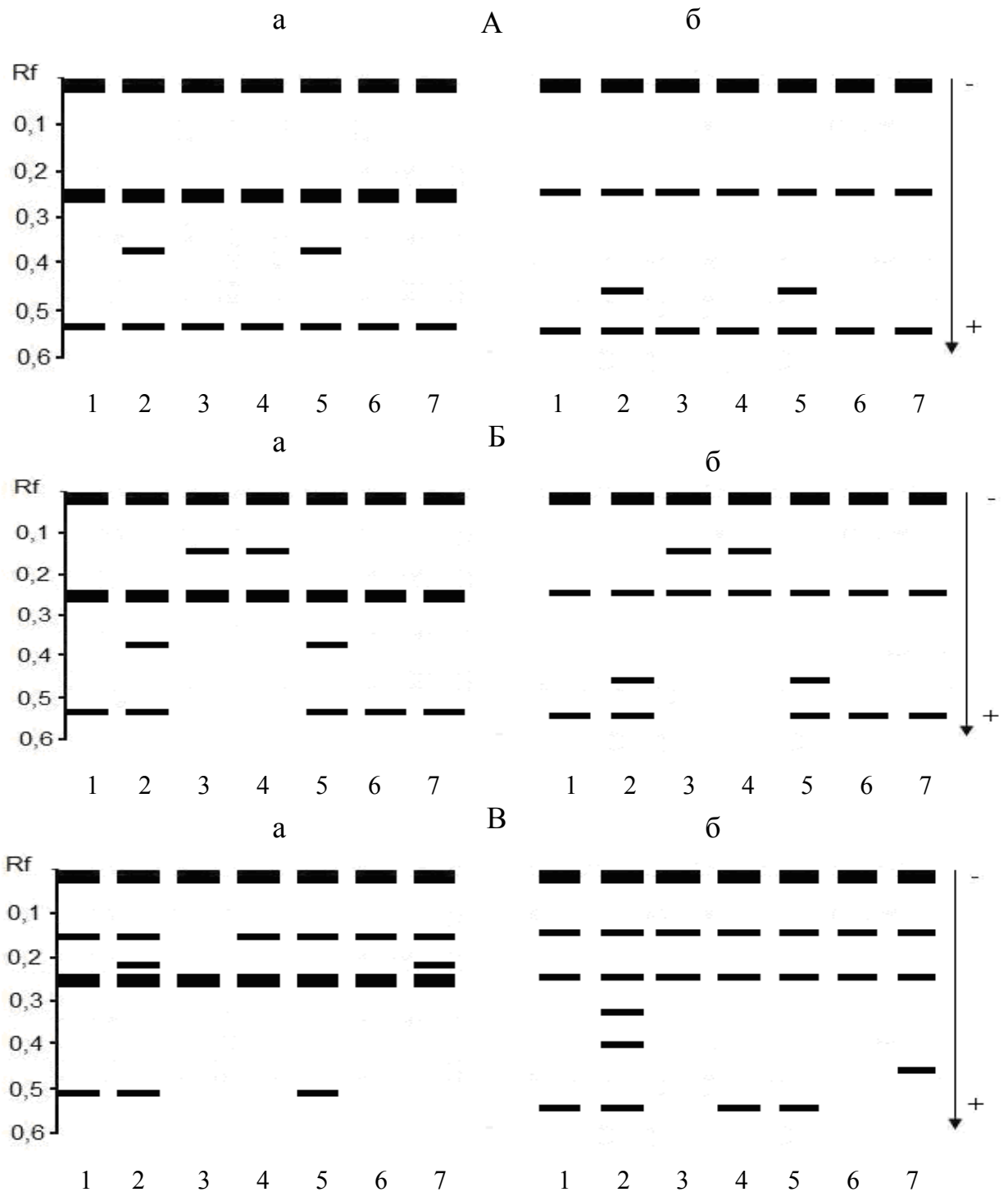


Рисунок 35 – Схемы электрофоретических спектров каталазы в листьях сорта Лидия (а) и формы КА 1344 (б) при различном уровне влажности почвы в фенологические фазы: третий тройчатый лист (А), цветение (Б), бобообразование (В), 1 – контроль (70% ПВ); 2 – 135% ПВ весь период; 3 – 35% ПВ весь период; 4 – 35% ПВ до цветения, затем 70%; 5 – 135% ПВ до цветения, затем 70%; 6 – 70% ПВ до цветения, затем 35%; 7 – 70% ПВ до цветения, затем 135%

Анализ множественных молекулярных форм каталазы в шестом и седьмом вариантах показал, что после смены условий выращивания у культурной и дикорастущей сои исчезают высокоподвижные формы, но при этом в седьмом варианте присутствуют формы с  $R_f$  0,21 (сорт Лидия) и 0,46 (форма КА 1344).

Полученные результаты позволяют заключить, что активность пероксидазы увеличивается при недостатке и избытке влаги, а каталазы – при переувлажнении почвы. Самая высокая активность пероксидазы в листьях *G. max* отмечена в варианте с недостаточным увлажнением почвы за весь период вегетации. Активность каталазы в период своего максимума выше в листьях *G. soja* в варианте с переувлажнением (фаза цветения). Переувлажнение почвы увеличивает гетерогенность электрофоретических спектров пероксидазы и каталазы в листьях *G. max* и *G. soja*, особенно формы КА 1344.

Анализ удельной активности пероксидазы в семенах показал, что максимальные значения у сорта Лидия и формы КА 1344 были зафиксированы в вариантах (3 и 4) с недостаточным увлажнением. Активность фермента увеличивается в 2 раза по отношению к контролю. Однако активность пероксидазы увеличивается в семенах пятого варианта, в котором растения подвергались избыточному увлажнению до фазы цветения, а затем были переведены на оптимальную влажность (табл. 30, прил. Д, табл. Д.5).

Во втором варианте (135% ПВ) активность пероксидазы по сравнению с контролем уменьшилась на 4% у сорта Лидия и 60% у формы КА 1344. Изменение влажности почвы после цветения в 6 и 7 вариантах также снизило активность пероксидазы в семенах культурной и дикорастущей сои, что привело к ухудшению посевных качеств семян, так как пероксидаза необходима для сохранения жизнеспособности семян при запуске процессов, связанных с их прорастанием (Рогожин В.В., 2000).

Таблица 30 – Удельная активность пероксидазы (ед/мг белка) и каталазы (ед/мг белка  $\times 10^{-3}$ ) в семенах сои при различном уровне влажности почвы, среднее за 2008-2010 гг.

Вариант опыта*	Удельная активность пероксидазы		Удельная активность каталазы	
	Лидия	КА 1344	Лидия	КА 1344
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$	
1	107 $\pm$ 3	484 $\pm$ 3	10 $\pm$ 1,4	13 $\pm$ 0,3
2	103 $\pm$ 3	197 $\pm$ 3	15 $\pm$ 3,8	18 $\pm$ 0,6
3	226 $\pm$ 8	865 $\pm$ 7	9 $\pm$ 0,3	10 $\pm$ 2,0
4	210 $\pm$ 4	767 $\pm$ 5	11 $\pm$ 1,0	16 $\pm$ 0,4
5	203 $\pm$ 4	713 $\pm$ 5	12 $\pm$ 0,9	21 $\pm$ 0,5
6	103 $\pm$ 3	213 $\pm$ 3	6 $\pm$ 0,6	10 $\pm$ 0,2
7	94 $\pm$ 5	221 $\pm$ 2	12 $\pm$ 0,3	23 $\pm$ 0,4
НСР <sub>05</sub>	2,6	1,4	4,0	2,9

Примечание: \*1 – контроль (70% ПВ); 2 – 135% ПВ весь период; 3 – 35% ПВ весь период; 4 – 35% ПВ до цветения, затем 70%; 5 – 135% ПВ до цветения, затем 70%; 6 – 70% ПВ до цветения, затем 35%; 7 – 70% ПВ до цветения, затем 135%;  $\bar{X} \pm S\bar{x}$  – среднее арифметическое  $\pm$  ошибка среднего

Недостаток влаги в почве весь период вегетации и в его первой половине не повлиял на активность каталазы, показатели активности в пределах контрольного варианта. Переизбыток влаги в почве независимо от периода вегетации способствовал росту активности каталазы. Активность каталазы у сорта Лидия максимальна в варианте с избытком влаги весь период вегетации, которая выше контроля в 2,5 раза. В семенах дикорастущей сои повышение активности каталазы установлено в вариантах 2, 5 и 7, где растения испытали стресс избыточным увлажнением, активность каталазы увеличивалась в 1,4-1,8 раза в зависимости от варианта опыта (табл. 30, прил. Д, табл. Д.6).

Снижение активности пероксидазы в семенах растений сои, которые находились в состоянии гипоксии, вызванной избыточным увлажнением почвы в период формирования репродуктивных органов (варианты 2, 7), компенсируется увеличением множественных молекулярных форм

пероксидазы за счет появления мало- и среднеподвижных форм с Rf 0,14 и 0,22 у сорта Лидия и с Rf 0,22; 0,29; 0,31; 0,47 у формы КА 1344 (рис. 36А, Б).

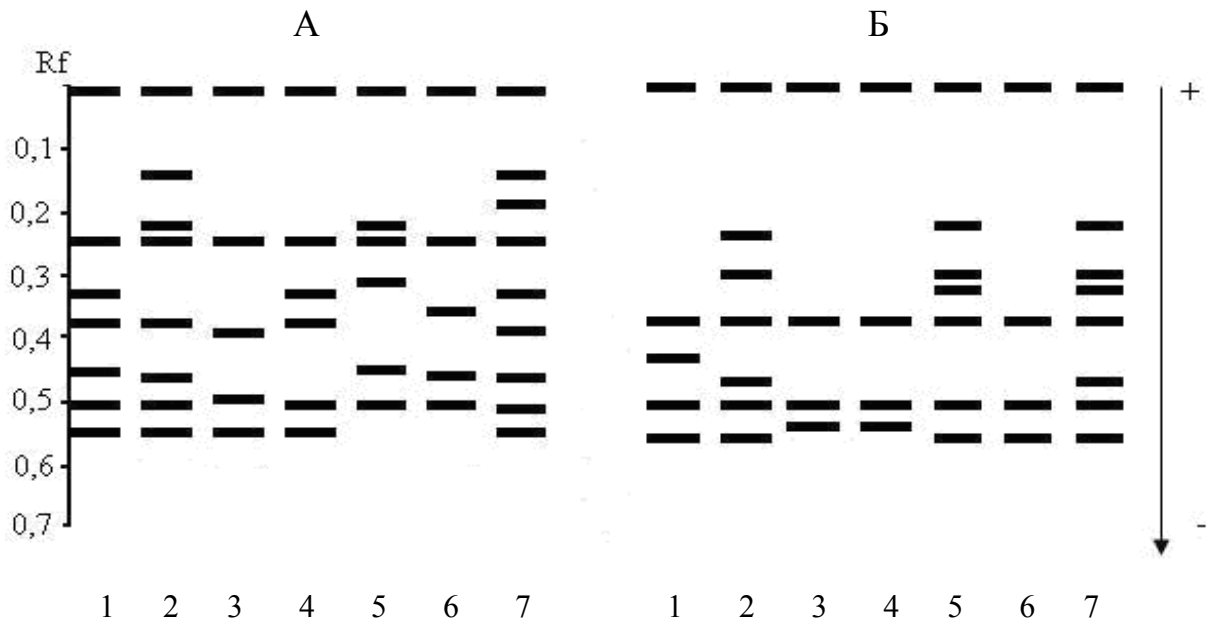


Рисунок 36 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы в семенах сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) при различном уровне влажности почвы: 1 – контроль (70% ПВ); 2 – 135% ПВ весь период; 3 – 35% ПВ весь период; 4 – 35% ПВ до цветения, затем 70%; 5 – 135% ПВ до цветения, затем 70%; 6 – 70% ПВ до цветения, затем 35%; 7 – 70% ПВ до цветения, затем 135%

Почвенная засуха в период роста и развития растений сои оказала более сильное воздействие на электрофоретический спектр пероксидазы сорта Лидия (варианты 3, 4, 6), в семенах которого наблюдается уменьшение множественных форм с семи до пяти-шести. У дикорастущей сои водный дефицит сопровождался уменьшением форм пероксидазы с пяти до четырех.

При изучении электрофоретических спектров каталазы выявлено, что контрольные образцы культурной сои содержали 4 компонента с каталазной активностью: 0-0,05; 0,18; 0,26-0,28 и 0,40. Электрофоретический спектр дикорастущей сои содержал 3 формы: 0-0,05; 0,22 и 0,36 (рис. 37А, Б).



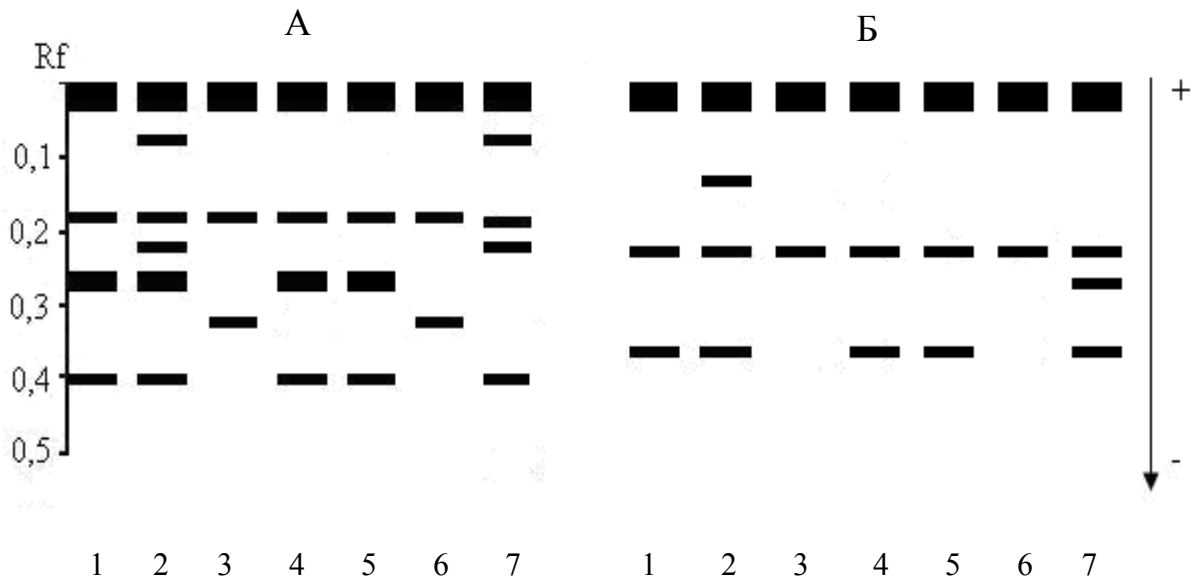


Рисунок 37 – Схемы электрофоретических спектров каталазы в семенах сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) при различном уровне влажности почвы: 1 – контроль (70% ПВ); 2 – 135% ПВ весь период; 3 – 35% ПВ весь период; 4 – 35% ПВ до цветения, затем 70%; 5 – 135% ПВ до цветения, затем 70%; 6 – 70% ПВ до цветения, затем 35%; 7 – 70% ПВ до цветения, затем 135%

Установлено, что при действии избыточного увлажнения на растения сои (варианты 2, 7) увеличивается гетерогенность электрофоретического спектра семян, количество форм у сорта Лидия возрастает до пяти-шести, появляются два новых компонента с  $R_f$  0,08 и 0,21, у формы КА 1344 возрастает до четырех, за счет  $R_f$  0,13. В семенах растений, которые подвергались воздействию засухи (варианты 3, 6), электрофоретический спектр культурной и дикорастущей сои содержал на один компонент меньше, чем в контроле. Однако у сорта Лидия была выявлена новая форма с  $R_f$  0,31.

В вариантах четыре и пять электрофоретический спектр каталазы *G. max* и *G. soja* был такой же, как и в контроле, следовательно, воздействие избыточного и недостаточного увлажнения почвы на растения до фазы цветения не оказывает влияния на окислительно-восстановительные процессы в семенах сои.

Таким образом, переувлажнение почвы увеличивает активность каталазы и гетерогенность электрофоретических спектров пероксидазы и каталазы в семенах сои. Недостаток влаги приводит к уменьшению множественных молекулярных форм каталазы и увеличению активности пероксидазы в семенах сои.

#### **4.2.3 Влияние избыточного и недостаточного увлажнения на содержание низкомолекулярных антиоксидантов в листьях и семенах *G. max* и *G. soja***

Аскорбиновая кислота является наиболее распространенным антиоксидантом в растениях, но при этом мало изучено влияние избыточного и недостаточного увлажнения почвы на её содержание в листьях и семенах *G. max* и *G. soja*.

Результаты исследования показали, что в фазе третьего тройчатого листа при недостатке влаги (варианты 3, 4) содержание аскорбиновой кислоты в листьях сорта Лидия увеличивается (рис. 38А, прил. Е, табл. Е.1).

В вариантах опыта, где растения испытывали избыточное увлажнение почвы, наблюдается снижение аскорбиновой кислоты. Согласно литературным данным, избыток влаги в почве во все фазы развития сои оказывает угнетающее действие на синтез аскорбиновой кислоты (Хван А.В., 1969). Однако у дикорастущей сои в фазе третьего тройчатого листа во всех вариантах содержание аскорбиновой кислоты было ниже, чем в контроле (рис. 38Б, прил. Е, табл. Е.1). При этом в вариантах с низким содержанием аскорбиновой кислоты было отмечено повышение активности антиоксидантных ферментов в листьях сои. Низкое содержание аскорбиновой кислоты может быть обусловлено не только снижением их биосинтеза, но и усилением их распада, вызванного как непосредственным действием фактора, так и активированием ферментных систем, разрушающих эти вещества (Овчаров К.Е., 1969).