

Рисунок 38 – Содержание аскорбиновой кислоты в листьях сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) при различном уровне влажности почвы в фенологические фазы: 1 – третий тройчатый лист; 2 – цветение; 3 – бобообразование, I – контроль (70% ПВ); II – 135% ПВ весь период; III – 35% ПВ весь период; IV – 35% ПВ до цветения, затем 70%; V – 135% ПВ до цветения, затем 70%; VI – 70% ПВ до цветения, затем 35%; VII – 70% ПВ до цветения, затем 135%, мг%, среднее за 2008-2010 гг.

В фазе цветения максимальный рост количества данного антиоксиданта в листьях культурной и дикорастущей сои отмечен в вариантах 3 и 4, где растения испытывали недостаток влаги в почве. У сорта Лидия в данных вариантах опыта уровень содержания аскорбиновой кислоты в 1,3-1,6 раза выше контрольного. Минимальное количество аскорбиновой кислоты выявлено в листьях растений, которые выращивались в условиях влажности 135% ПВ. У дикорастущей сои этот показатель незначительно выше контроля в вариантах 3, 4, 6, 7. В вариантах 2 и 5, где почва была переувлажнена, общее содержание аскорбиновой кислоты значительно меньше, чем в контрольном варианте.

Данная тенденция в изменении содержания аскорбиновой кислоты в листьях под влиянием избыточного и недостаточного увлажнения почвы прослеживается и в фазе бобообразования. Перевод растений культурной и дикорастущей сои из затопления на оптимальное увлажнение почвы приводит к

усилению биосинтеза аскорбиновой кислоты, но общее количество её в листьях опытных растений чуть ниже уровня контроля.

Известно, что каротины, в частности,  $\beta$ -каротин, являются наиболее распространенным метаболитом живых организмов, участвующим в системе защиты клеток от воздействия неблагоприятных факторов среды. В пользу этого свидетельствуют данные об увеличении количества этого пигмента при экстремальных воздействиях – ультрафиолетового (УФ) и рентгеновского облучений, гипоксии, а также загрязнении химическими веществами (Ладыгин В.Г., Ширшикова Г.Н., 1993).

Содержание каротина в листьях *G. max* и *G. soja*, так же, как и аскорбиновой кислоты, снижается при избытке влаги в почве (вариант 2) во все фазы развития сои (рис. 39А, Б, прил. Е., табл. Е.1).

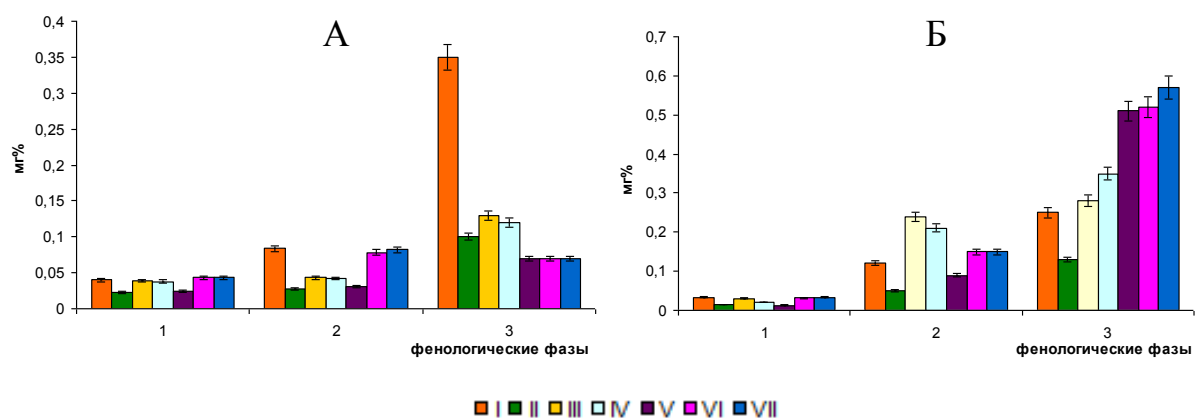


Рисунок 39 – Содержание каротина в листьях сорта Лидия (А) и формы КА 1344 (Б) при различном уровне влажности почвы в фенологические фазы: 1 – третий тройчатый лист; 2 – цветение; 3 – бобообразование, I – контроль 70% ПВ; II – 135% ПВ весь период; III – 35% ПВ весь период; IV – 35% ПВ до цветения, затем 70%; V – 135% ПВ до цветения, затем 70%; VI – 70% ПВ до цветения, затем 35%; VII – 70% ПВ до цветения, затем 135%, мг%, среднее за 2008-2010 гг.

При недостатке влаги содержание каротина остается на уровне контроля в фазе третьего тройчатого листа, в остальные фазы развития сои

были выявлены различия в накоплении каротина у *G. max* и *G. soja* в ответ на стресс. В фазе цветения и образования бобов у сорта Лидия содержание каротина снижается в вариантах с избыточным и недостаточным увлажнением почвы. У дикорастущей сои в фазе цветения содержание каротина увеличивается при выращивании в условиях засухи (варианты 3, 4). В фазе бобообразования во всех вариантах, кроме второго (135% ПВ), отмечено накопление каротина.

Рост растений в условиях недостаточного увлажнения почвы способствовал усилению синтеза аскорбиновой кислоты и её накоплению в семенах сои (табл. 31, прил. Е, табл. Е.2). Затопление почвы, оказывая значительное отрицательное действие на синтез аскорбиновой кислоты в листьях, способствовало снижению содержания витамина С и в семенах у дикорастущей сои. У сорта Лидия, наоборот, данные условия привели к увеличению содержания аскорбиновой кислоты.

В отличие от аскорбиновой кислоты, содержание которой в семенах сорта Лидия после водного стресса возросло, уровень каротина во всех вариантах опыта ниже, чем в контроле. Наименьшее количество каротина отмечено в вариантах с избыточным увлажнением почвы. В семенах дикорастущей сои во всех вариантах содержание каротина, так же, как и у сорта Лидия, было ниже, чем в контроле, особенно в варианте с недостаточным увлажнением почвы.

С.М. Рысс (1963) установил, что при снижении хлорофилла и каротиноидов происходит накопление токоферолов. Наши исследования подтверждают данную закономерность в изменении содержания каротина и токоферола. Количество токоферола в семенах культурной и дикорастущей сои увеличивается при переувлажнении почвы в течение всего вегетационного периода на 20 и 30% соответственно. В варианте с недостатком влаги содержание токоферола в семенах формы КА 1344 незначительно выше, чем в контроле, у сорта Лидия – на уровне контроля.

Таблица 31 – Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в семенах сои при различном уровне влажности почвы, мг%, среднее за 2008-2010 гг.

Вариант опыта	Сорт (форма *)	Низкомолекулярные антиоксиданты, мг%		
		аскорбиновая кислота	каротин	токоферол
		$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
Контроль – 70% ПВ	Лидия	42,0 ± 2	0,11 ± 0,001	20,0 ± 0,01
	КА 1344*	100,0 ± 9	0,21 ± 0,001	113,0 ± 0,02
135% ПВ – весь период вегетации	Лидия	69,7 ± 2	0,05 ± 0,003	24,0 ± 0,01
	КА 1344*	51,7 ± 2	0,07 ± 0,002	147,0 ± 0,1
35% ПВ – весь период вегетации	Лидия	81,7 ± 4	0,09 ± 0,001	21,0 ± 0,01
	КА 1344*	188,3 ± 7	0,05 ± 0,001	120,0 ± 0,02
35% ПВ – всходы - цветение, затем 70% ПВ	Лидия	89,0 ± 5	0,08 ± 0,002	19,7 ± 0,01
	КА 1344*	112,6 ± 6	0,14 ± 0,002	113,0 ± 0,06
135% ПВ – всходы - цветение, затем 70% ПВ	Лидия	53,1 ± 3	0,05 ± 0,001	22,3 ± 0,01
	КА 1344*	89,7 ± 3	0,06 ± 0,001	115,0 ± 0,06
70% ПВ – всходы - цветение, затем 35% ПВ	Лидия	91,4 ± 5	0,04 ± 0,002	30,0 ± 0,01
	КА 1344*	107,6 ± 7	0,05 ± 0,002	143,0 ± 0,03
70% ПВ – всходы - цветение, затем 135% ПВ	Лидия	57,9 ± 3	0,03 ± 0,001	25,0 ± 0,01
	КА 1344*	85,6 ± 3	0,06 ± 0,001	148,0 ± 0,05
НСР <sub>05</sub>		1,0	1,1	1,5

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

Перевод растений после цветения с оптимальной влажности на недостаток или избыток влаги также приводит к существенному накоплению витамина Е в семенах. В вариантах опыта 4 и 5, где после цветения растения находились в условиях оптимальной влажности, содержание токоферола осталось в пределах контрольного варианта.

Таким образом, рост растений в условиях недостаточного увлажнения почвы способствовал усилению синтеза аскорбиновой кислоты и её накоплению в листьях и семенах сои, особенно у дикорастущей сои. Уровень каротина в семенах сои во всех вариантах опыта ниже, чем в контроле. Семена дикорастущей сои отличались повышенным содержанием токоферола. Полученные экспериментальные данные по содержанию

низкомолекулярных антиоксидантов, свидетельствуют о том, что растения культурной сои менее устойчивы к действию избыточного и недостаточного увлажнения, чем дикорастущей сои. В листьях и семенах дикорастущей сои больше накапливается аскорбиновой кислоты (вариант 3, 35% ПВ) и токоферола.

#### **4.3 Адаптация и устойчивость *G. max* и *G. soja* к различной продолжительности дня с участием антиоксидантной системы**

Ввиду основополагающей роли фотосинтеза в жизни растений, солнечный свет является одним из наиболее важных экологических факторов. Причем для цветковых растений свет – это не только основной источник энергии, но и фактор регуляции их температуры, роста, развития и метаболизма.

Действие света на растения зависит от его интенсивности, спектрального состава, а также продолжительности светового и темного периодов. Недостаток света может привести к «голоданию» и гибели растения, а избыточная освещенность нередко оказывается причиной солнечного ожога и усыхания растений (Жученко А.А., 2001).

При изменении условий освещенности в листе протекают различные адаптивные изменения, направленные на лучшее использование света. При этом важную роль играют изменения концентрации активной формы фитохрома, матричной РНК, а также ферментов и пигментов, участвующих в процессе фотосинтеза (Калер В.Л., Фридлянд Л.Е., 1978).

Исследования последних лет указывают на существование изменений в содержании ферментов и витаминов у группы растений с разной фотопериодической реакцией, особенно если их помещали в несвойственный им световой режим (Хайрулина Т.П., Тихончук П.В., Семенова Е.А., 2011; Lee D.H., Lee C.B., 2000).

Л.Н. Скрыпник и Г.Н. Чупахина (2007, 2008) изучали действие света высокой интенсивности на активность каталазы в растениях ячменя и капусты китайской, выращенных в условиях дефицита цинка, было выявлено снижение активности фермента после 12-часовой световой экспозиции.

Изучение физиологических особенностей короткодневных и длиннодневных растений способствовало широкому использованию явления фотопериодизма в практике растениеводства.

М.Х. Чайлахян и Т.В. Баврина (цит. по А.К. Лещенко, 1978) обстоятельно исследовали влияние длины дня на содержание каротина, ксантофилла и хлорофилла в листьях короткодневных и длиннодневных растений. Они показали, что у большинства короткодневных видов – проса, сои и томатов – каротина и других пигментов в первые две недели больше накапливается при длинном дне, а в дальнейшем – на коротком, что способствует их генеративному развитию. Обращает на себя внимание и тот факт, что содержание каротина в короткодневных растениях остается высоким и к концу вегетации.

Как отмечалось выше, содержание каротиноидов существенным образом изменяется в зависимости от качества света и продолжительности его действия на растения. Накопление же этих пигментов имеет большое значение, так как каротиноиды участвуют во многих процессах жизнедеятельности растений, в том числе и в фототропических реакциях (Гавриленко В.Ф., 1975).

Ряд авторов (Hammad K.H., Afaf Al-N. H., Abdul H.R. W., 2012) изучали влияние фотопериода на углеводный обмен и активность ферментов сахарозо-фосфат-синтазы, амилазы и инвертазы в листьях сои нейтральных линий и линий короткого дня, однако исследований по влиянию различной продолжительности светового дня на активность антиоксидантной системы сои ранее не проводилось.

### 4.3.1 Влияние различной длительности дня на рост, развитие и показатели продуктивности *G. max* и *G. soja*

Сою считают растением короткого дня, однако встречаются сортовые различия на изменения длительности дня. Известно, что более позднеспелый сорт сильнее реагирует на изменение продолжительности светового дня (Степанова В.М., 1972). Поэтому ещё одним объектом исследования, кроме скороспелого сорта Лидия и дикорастущей сои, у которой продолжительность периода вегетации составляет в среднем 95 суток, послужил среднеспелый сорт Марината. Разные по скороспелости сорта культурной и форма дикорастущей сои проявляют неодинаковую ответную реакцию на изменение продолжительности светового дня. У среднеспелого сорта Марината при 12-часовом дне период вегетации уменьшается на 19 суток, за счет существенного сокращения продолжительности периодов: «всходы–цветение» и «цветение–образование бобов» (рис. 40).

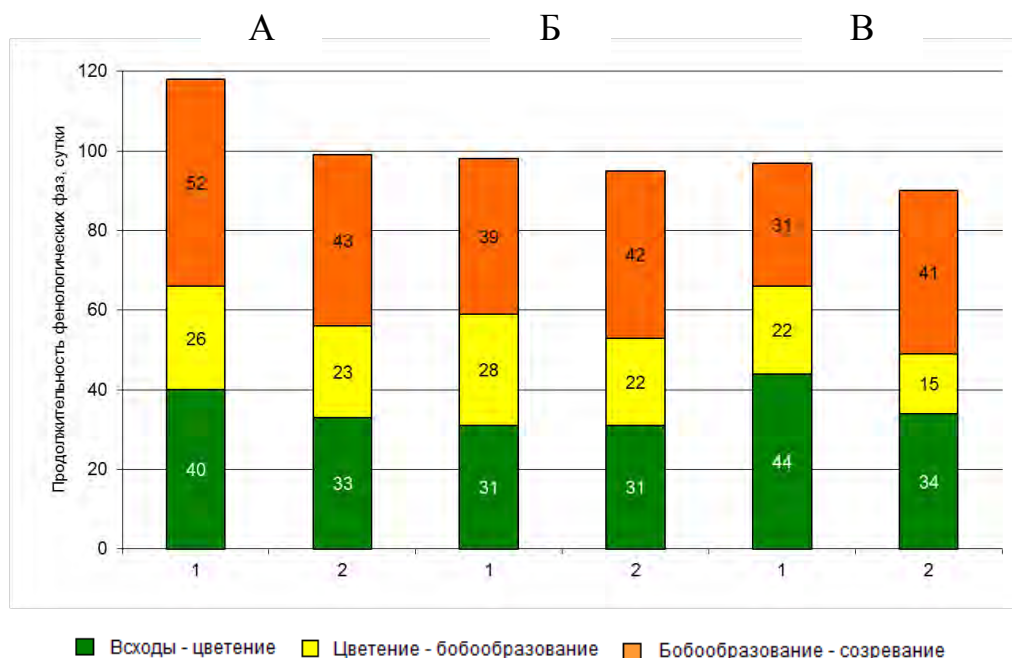


Рисунок 40 – Влияние различной длительности дня на продолжительность фенологических фаз роста и развития сои сортов Марината (А), Лидия (Б), формы КА 1344 (В): 1 – естественные условия; 2 – 12-часовой день, среднее за 2008-2010 гг.

Скороспелый сорт Лидия и форма КА 1344 слабо реагируют на изменение длины светового дня. При коротком дне выращивания период вегетации составляет 95 и 90 суток, в контрольном варианте – 98 и 97 суток соответственно. У них отмечено ускорение сроков цветения, но задерживается налив и созревание семян.

Сокращение продолжительности дня в большей степени оказывает негативное влияние на хозяйственно-ценные признаки среднеспелого сорта Марината (табл. 32).

Таблица 32 – Влияние различной длительности дня на показатели продуктивности *G. max* и *G. soja*, среднее за 2008-2010 гг.

Сорт (форма*) (фактор А)	Вариант опыта (фактор В)	Показатели продуктивности (среднее с растения)			
		высота растений, см	количество бобов, шт.	количество семян, шт.	масса семян, г
Марината	Контроль (естествен- ные условия)	84,4	20,5	51,3	7,9
	Короткий день (12 часов)	41,3	12,1	22,3	5,4
Лидия	Контроль (естествен- ные условия)	95,5	17,2	49,8	7,0
	Короткий день (12 часов)	62,0	13,9	46,0	6,7
КА 1344*	Контроль (естествен- ные условия)	100,5	108,0	241,5	4,1
	Короткий день (12 часов)	67,6	78,8	172,2	3,5
НСР <sub>05</sub>		1,2	2,2	2,1	0,8
НСР <sub>А</sub>		1,1	1,5	1,5	0,4
НСР <sub>В</sub>		1,1	1,5	1,5	0,4

Растения опытного варианта ниже растений контроля в 1,5 раза у сорта Лидия и формы КА 1344 и в 2 раза у сорта Марината. Задержка роста



растений была обусловлена замедленным суточным приростом и быстрым завершением цветения. При этом сокращалось число междоузлий.

Продуктивность сои в связи с уменьшением высоты растений и числа междоузлий несколько снижалась. Количество бобов по отношению к контролю снижается на 59% у сорта Марината, на 19% – у сорта Лидия и 27% – у дикорастущей формы.

Количество семян у растений, выращенных при 12-часовом световом дне, меньше в 2,3 раза у сорта Марината и в 1,4 раза у КА 1344, чем у растений, выращенных в естественных условиях. У сорта Лидия количество семян незначительно уменьшается при выращивании на коротком дне.

Масса семян у растений опытного варианта уступает массе семян в контрольном варианте: у сорта Марината масса семян с одного растения на 2,5 г меньше, чем в контроле, у сорта Лидия и формы КА 1344 данная разница составила 0,3-0,6 г соответственно.

Таким образом, продолжительность дня является одним из решающих факторов среды, определяющим темпы роста, развития, накопления органической массы, семенную продуктивность сои. На всех этапах онтогенеза растений сои естественный день обеспечивает наиболее высокие темпы роста и накопления органической массы, в результате чего достигается более высокая семенная продуктивность растений. Сокращение продолжительности дня в большей степени оказывает негативное влияние на хозяйственно-ценные признаки среднеспелого сорта Марината.

#### **4.3.2 Адаптация и устойчивость *G. max* и *G. soja* к различной длительности дня с участием антиоксидантных ферментов**

Изменение длительности дня влияет не только на изменение периода вегетации и продуктивности, но и на активность окислительно-восстановительных ферментов антиоксидантной системы. В фазе третьего тройчатого листа активность пероксидазы культурных растений сои,

выращенных при коротком световом дне, была выше контрольного варианта: у сорта Марината в 2,5 раза, у сорта Лидия в 1,6 раза (табл. 33, прил. Ж, табл. Ж.1).

Таблица 33 – Удельная активность пероксидазы (ед/мг белка  $\times 10^{-2}$ ) и каталазы (ед/мг белка  $\times 10^{-3}$ ) в листьях сои при различной длительности дня, среднее за 2008-2010 гг.

Фенологическая фаза	Вариант опыта	Сорт (форма*)	Удельная активность пероксидазы	Удельная активность каталазы
			$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
Третий тройчатый лист	Контроль (естественные условия)	Марината	81 $\pm$ 6	21 $\pm$ 0,1
		Лидия	53 $\pm$ 4	45 $\pm$ 0,3
		КА 1344*	52 $\pm$ 1	21 $\pm$ 0,1
	Короткий день (12 часов)	Марината	203 $\pm$ 10	23 $\pm$ 0,2
		Лидия	85 $\pm$ 5	47 $\pm$ 1
		КА 1344*	53 $\pm$ 1	21 $\pm$ 0,2
Цветение	Контроль (естественные условия)	Марината	69 $\pm$ 2	120 $\pm$ 1
		Лидия	69 $\pm$ 2	135 $\pm$ 2
		КА 1344*	32 $\pm$ 2	370 $\pm$ 1
	Короткий день (12 часов)	Марината	85 $\pm$ 3	170 $\pm$ 2
		Лидия	69 $\pm$ 3	140 $\pm$ 5
		КА 1344*	30 $\pm$ 0,2	680 $\pm$ 3
Бобообразование	Контроль (естественные условия)	Марината	83 $\pm$ 2	98 $\pm$ 1
		Лидия	60 $\pm$ 1	60 $\pm$ 1
		КА 1344*	165 $\pm$ 3	97 $\pm$ 1
	Короткий день (12 часов)	Марината	146 $\pm$ 3	126 $\pm$ 1
		Лидия	63 $\pm$ 2	80 $\pm$ 2
		КА 1344*	219 $\pm$ 2	116 $\pm$ 3
НСР <sub>05</sub>			2,9	1,7

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

Активность пероксидазы в фазе цветения (опыт) у сорта Марината была выше, чем в контрольном варианте, в 1,2 раза. Уровень активности пероксидазы у сорта Лидия и формы КА 1344 находится в пределах контрольного варианта. После цветения растения опытного варианта

развивались при естественном световом дне. Однако активность пероксидазы у сорта Марината статистически выше, чем у растений, выросших в естественных условиях. Полученные данные свидетельствуют о том, что произошла перестройка метаболических процессов у растений сои в процессе их адаптации к условиям короткого дня.

В фазе цветения активность каталазы у сорта Марината в опытном варианте была выше контроля в 1,4 раза (табл. 33, прил. Ж, табл. Ж.2). У сорта Лидия активность фермента в листьях опытных растений увеличивается несущественно. Активность каталазы у дикорастущей сои была выше, чем у контрольных растений, в 1,8 раза. Сокращение длительности дня привело к увеличению активности каталазы в фазе бобообразования, у культурной сои и у формы КА 1344 отмечен рост активности каталазы в среднем на 30 и 20 % соответственно.

На рисунке 41 представлены электрофоретические спектры пероксидазы листьев *G. max* и *G. soja* контрольных растений, выращиваемых в естественных условиях, и листьев растений, выращиваемых при 12-часовом дне. Изменения в спектре пероксидазы листьев сои при сокращении продолжительности светового дня незначительны, отмечено лишь увеличение гетерогенности электрофоретических спектров пероксидазы у сорта Марината, за счет дополнительного компонента со средней электрофоретической подвижностью ( $R_f$  0,38).

Восстановительный процесс у культурной и дикорастущей сои после перевода растений в естественные условия в фазе бобообразования происходит по-разному: у дикорастущей сои и сорта Лидия множественные молекулярные формы имели аналогичную с контролем электрофоретическую подвижность. У опытных растений сорта Марината в электрофоретическом спектре пероксидазы сохраняется дополнительная форма  $R_f$  0,38, которая была впервые выявлена ещё в фазе третьего тройчатого листа у растений, выращиваемых в условиях 12-часового дня. Обнаруженные изменения

электрофоретических спектров пероксидазы обеспечивают адаптацию к разным условиям фотопериода.

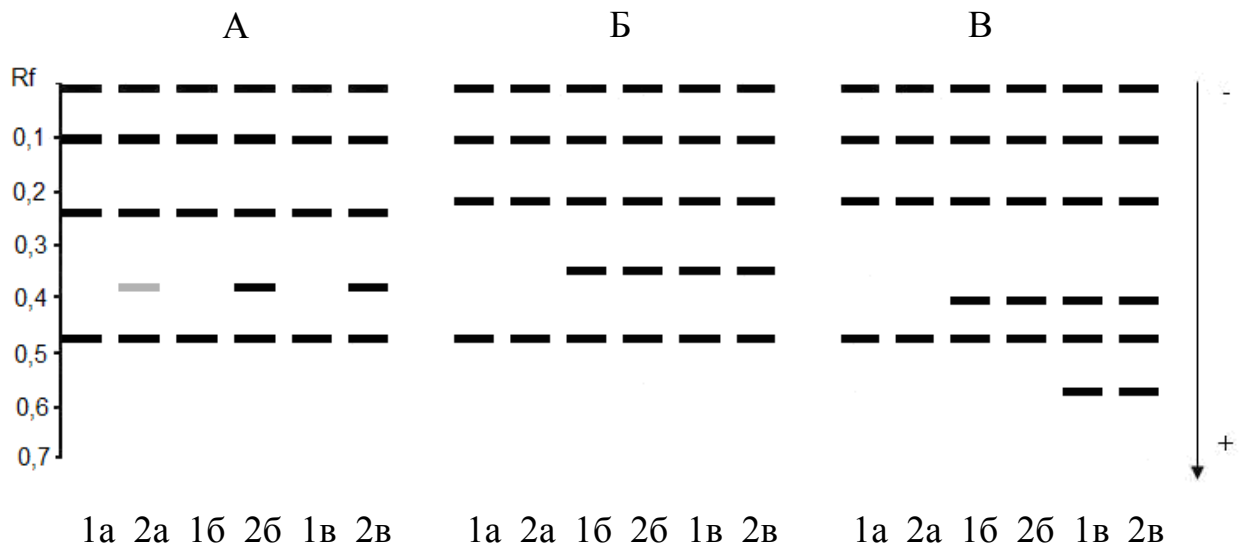


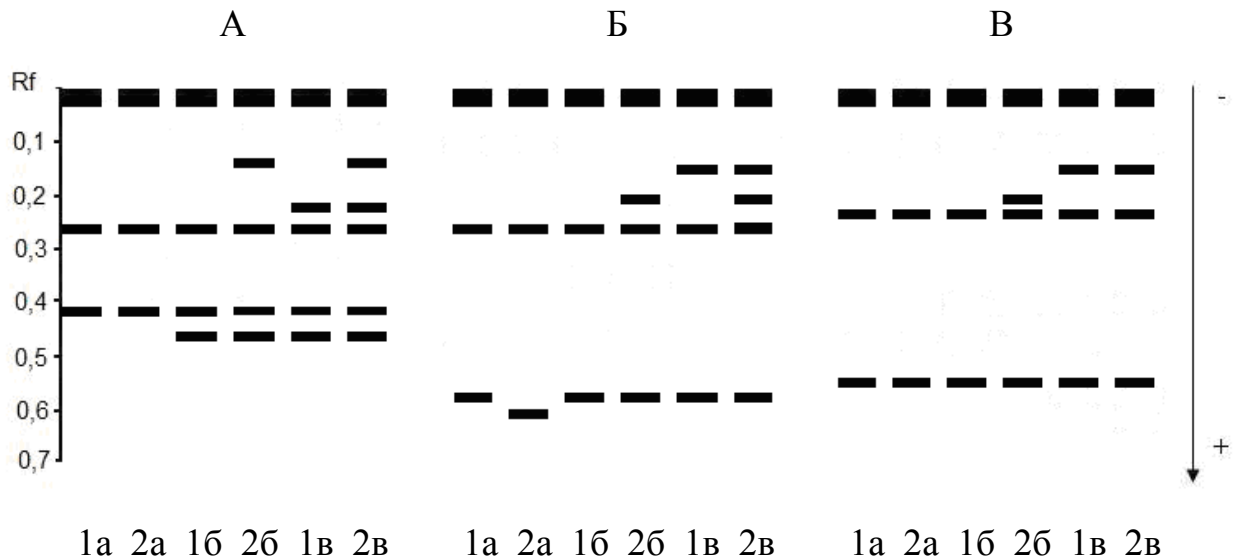
Рисунок 41 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы в листьях сортов Марината (А), Лидия (Б) и формы КА 1344 (В) при различной длительности дня в фенологические фазы: третий тройчатый лист (а), цветение (б), бобообразование (в), 1 – естественные условия; 2 – 12-часовой день

Выращивание растений при 12-часовом дне в фазе цветения вызывало усложнение электрофоретического спектра за счет малоподвижных форм с каталазной активностью: у сорта Марината – это дополнительная форма с Rf 0,14, у сорта Лидия и формы КА 1344 – с Rf 0,20 (рис. 42).

Восстановление после действия неблагоприятного фактора (фаза бобообразования) происходит полностью у формы КА 1344. У сортов культурной сои этого не наблюдалось, после перевода растений в естественные условия электрофоретические спектры отличались от контроля.

Во всех вариантах и всех фазах развития сои в электрофоретических спектрах пероксидазы и каталазы присутствовала высокомолекулярная форма с низкой электрофоретической подвижностью Rf 0-0,02 или Rf 0-0,04. По-видимому, в этой зоне локализуются пероксидаза и каталаза. Этот факт подтверждает мнение, что отдельные компоненты электрофореграмм

гетерогенны и могут содержать по несколько индивидуальных белков (Петрова О.В. и др., 1985).



1а 2а 1б 2б 1в 2в      1а 2а 1б 2б 1в 2в      1а 2а 1б 2б 1в 2в  
 Рисунок 42 – Схемы электрофоретических спектров каталазы в листьях сортов Марината (А), Лидия (Б) и формы КА 1344 (В) при различной длительности дня в фенологические фазы: третий тройчатый лист (а), цветение (б), бобообразование (в), 1 – естественные условия; 2 – 12-часовой день

Исследования показали, что короткий день способствует сокращению периода вегетации. Растения *G. max* и *G. soja* проявили неодинаковую ответную реакцию антиоксидантной системы на изменение продолжительности светового дня. Наиболее существенное увеличение активности пероксидазы выявлено у сорта Марината в фазе третьего тройчатого листа при 12-часовом дне. Изменение фотопериода привело к увеличению гетерогенности пероксидазы и каталазы в большей степени у сорта Марината.

Выращивание растений при коротком дне привело к снижению активности пероксидазы в семенах среднеспелого сорта Марината в 1,4 раза (табл. 34, прил. Ж., табл. Ж.3).

Таблица 34 – Удельная активность пероксидазы (ед/мг белка) и каталазы (ед/мг белка  $\times 10^{-3}$ ) в семенах сои при различной длительности дня, среднее за 2008-2010 гг.

Вариант опыта	Сорт (форма*)	Удельная активность пероксидазы	Удельная активность каталазы
		$\bar{X} \pm S\bar{x}$	
Контроль (естественные условия)	Марината	19 $\pm$ 0,1	8 $\pm$ 2
	Лидия	107 $\pm$ 5	10 $\pm$ 0,3
	КА 1344*	510 $\pm$ 4	15 $\pm$ 2
Короткий день (12 часов)	Марината	14 $\pm$ 0,1	5 $\pm$ 1
	Лидия	149 $\pm$ 3	15 $\pm$ 1
	КА 1344*	511 $\pm$ 4	19 $\pm$ 1
НСР <sub>05</sub>		1,9	2,0

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

У скороспелого сорта Лидия наблюдается иная ответная реакция на сокращение светового дня, активность пероксидазы в семенах растений, выращиваемых при 12-часовом дне на 39% выше, чем при естественном освещении. В семенах формы КА 1344, выращенных при коротком дне, не выявлено достоверного изменения удельной активности пероксидазы, что указывает на устойчивость растений к действию данного фактора.

В семенах сорта Марината активность каталазы, так же, как и пероксидазы, снижается на 38% по отношению к контролю (естественные условия) (табл. 34, прил. Ж., табл. Ж.4). Сокращение продолжительности дня приводит к увеличению активности каталазы в семенах сорта Лидия и формы КА 1344.

Сравнительные исследования электрофоретических спектров пероксидазы показали, что наибольшие различия между семенами контрольных и опытных растений выявлены у культурной сои. У сорта Марината повышается гетерогенность за счет дополнительной малоподвижной формы с Rf 0,20; у сорта Лидия, наоборот, в семенах опытных растений, в отличие от контроля, исчезает форма со средней электрофоретической подвижностью (рис. 43А).

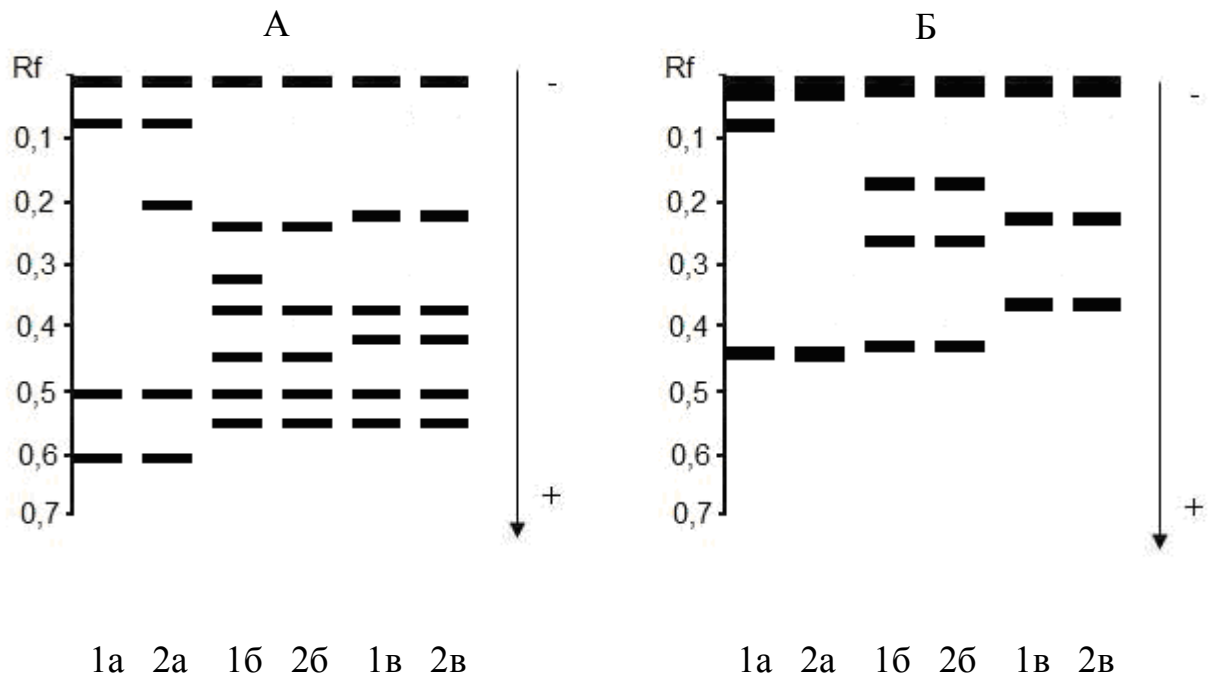


Рисунок 43 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы (А) и каталазы (Б) в семенах сортов Марината (а), Лидия (б) и формы КА 1344 (в) при различной длительности дня: 1 – естественные условия; 2 – 12-часовой день

Анализ электрофоретических спектров каталазы семян контрольных и опытных растений *G. max* и *G. soja* позволил выявить снижение гетерогенности каталазы у сорта Марината (рис. 43Б). У сорта Лидия и формы КА 1344 электрофоретический спектр семян опытных растений был аналогичен контролю.

Проведенные исследования позволяют сделать следующее заключение, что разные по скороспелости сорта культурной и форма дикорастущей сои проявляют неодинаковую ответную реакцию на изменение продолжительности светового дня.

### 4.3.3 Влияние различной длительности дня на содержание низкомолекулярных антиоксидантов в листьях и семенах *G. max* и *G. soja*

У растений с разной фотопериодической реакцией, особенно при помещении их в несвойственный им световой режим, происходят существенные изменения в содержании низкомолекулярных антиоксидантов. В фазе цветения в листьях всех исследованных образцов содержание аскорбиновой кислоты снижается в 1,3 раза, в фазе бобообразования у сорта Марината снижается в 1,4 раза, у сорта Лидия и формы КА 1344 отмечено незначительное снижение (табл. 35, прил. К, табл. К.1).

Таблица 35 – Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в листьях сои при различной длительности дня, мг%, среднее за 2008-2010 гг.

Фенологическая фаза	Вариант опыта	Сорт (форма*)	Низкомолекулярные антиоксиданты	
			аскорбиновая кислота	каротин
			$\bar{X} \pm S\bar{x}$	
Цветение	Контроль (естественные условия)	Марината	213,3±7,3	0,04±0,0002
		Лидия	146,2±3,2	0,05±0,0001
		КА 1344*	178,4±6,0	0,04±0,0002
	Короткий день (12 часов)	Марината	161,5±3,6	0,04±0,0002
		Лидия	116,5±1,9	0,08±0,0004
		КА 1344*	133,2±4,3	0,04±0,0003
Бобообразование	Контроль (естественные условия)	Марината	103±3,3	0,07±0,0002
		Лидия	137,6±2,6	0,05±0,0001
		КА 1344*	117±4,7	0,06±0,0004
	Короткий день (12 часов)	Марината	74±1,7	0,07±0,0002
		Лидия	128,2±1,9	0,05±0,0002
		КА 1344*	113±5,3	0,06±0,0002
НСР <sub>05</sub>			0,6	0,01

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

Содержание каротина в листьях сорта Марината и дикорастущей формы КА 1344 на протяжении всего периода вегетации не отличается от



контроля, только у сорта Лидия отмечено повышение каротина в листьях опытных растений в фазе цветения в 1,6 раза.

В литературе встречаются данные о том, что сокращение продолжительности дня увеличивает содержание аскорбиновой кислоты в семенах (Овчаров К.Е., 1969). Результаты наших исследований также указывают на увеличение количества аскорбиновой кислоты в семенах. У формы КА 1344 содержание витамина С при сокращении освещения до 12 часов увеличилось в 2,8 раза. Большое накопление аскорбиновой кислоты (33,2 мг%) выявлено в семенах сорта Марината, полученных с растений, выращенных при 12-часовом дне, это в 1,6 раза выше, чем в семенах растений, выращенных в естественных условиях (табл. 36, прил. К, табл. К.2).

Таблица 36 – Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в семенах сои при различной длительности дня, мг%, среднее за 2008-2010 гг.

Варианты опыта	Сорт (форма*)	Низкомолекулярные антиоксиданты, мг%		
		аскорбиновая кислота	каротин	токоферол
		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		
Контроль (естественные условия)	Марината	20,6 ± 0,3	0,08 ± 0,0001	19,3 ± 0,01
	Лидия	23,6 ± 0,3	0,04 ± 0,0001	28,8 ± 0,05
	КА-1344*	10,4 ± 0,1	0,07 ± 0,0002	112,7 ± 0,02
Короткий день (12 часов)	Марината	33,2 ± 0,1	0,05 ± 0,0001	18,8 ± 0,01
	Лидия	31,5 ± 0,2	0,08 ± 0,0003	29,0 ± 0,03
	КА-1344*	29,5 ± 0,1	0,08 ± 0,0002	110,7 ± 0,01
НСР <sub>05</sub>		1,5	0,01	1,9

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

Содержание каротина в семенах среднеспелого сорта Марината на 38% ниже, а в семенах скороспелого сорта Лидия на 100% выше при выращивании в условиях короткого дня, чем в семенах растений, выращенных в естественных условиях. Усиленный синтез каротина в семенах сорта Лидия является одним из проявлений изменения обмена веществ, вызванного влиянием благоприятной длины дня. Изменение

продолжительности дня не оказало влияния на уровень каротина в семенах дикорастущей сои. В семенах *G. max*, которые росли при коротком световом дне, витамина Е содержится столько же, что и в семенах растений контрольного варианта.

Таким образом, сокращение длительности дня приводит к снижению аскорбиновой кислоты в листьях и, наоборот, увеличивает в семенах *G. max* и *G. soja*; содержание каротина снижается в семенах у среднеспелого сорта Марината и увеличивается в листьях и семенах у скороспелого сорта Лидия, но остается на уровне контроля у дикорастущей сои. Короткий световой день не оказал влияния на содержание токоферола в семенах сои.

В целом, адаптация сои к экстремальные условия направлена на выживание и сопровождается снижением ростовых процессов, продуктивности, перестройкой энзиматических систем, включением компенсаторных механизмов, организацией метаболической и антиоксидантной защиты.

### **Выводы по четвертой главе**

1. Реакция растений на гипо- и гипертермию, избыточное и недостаточное увлажнение, различную длительность дня зависит от продолжительности воздействия повреждающего фактора, фазы развития и генотипа растения и характеризуется снижением показателей продуктивности, изменением активности пероксидазы и каталазы и их электрофоретических спектров, что свидетельствует об участии данных ферментов в адаптивных процессах. Величина изменений определяется устойчивостью сои к неблагоприятным факторам внешней среды.

2. Изменение активности пероксидазы и каталазы в листьях культурной и дикорастущей сои под влиянием экстремальных абиотических факторов имеет сходный характер, однако репарационные процессы у *G. soja* протекают интенсивнее, чем у *G. max*.

3. В ходе проведенных исследований были выявлены множественные молекулярные формы ферментов листьев сои, которые встречаются в зависимости от действия неблагоприятных абиотических факторов: высокой температуры с Rf 0,05; 0,07; 0,12 (пероксидаза); низкой положительной температуры с Rf 0,54; 0,57; 0,62; 0,68 (пероксидаза) и Rf 0,20; 0,32 (каталаза); переувлажнения почвы с Rf 0,60; 0,76 (пероксидаза) и Rf 0,21; 0,32; 0,40 (каталаза); недостаточного увлажнения почвы с Rf 0,32; 0,43 (пероксидаза). Множественные молекулярные формы пероксидазы с Rf 0,02; 0,10; 0,46 и каталазы с Rf 0,04; 0,24 встречаются в электрофоретических спектрах листьев и семян *G. max* и *G. soja*, несмотря на воздействие экстремальных факторов.

4. Снижение активности пероксидазы сопровождается повышением активности каталазы и увеличением содержания аскорбиновой кислоты в листьях сои, накопление токоферола в семенах сои обеспечивает компенсацию истощения других низкомолекулярных компонентов антиоксидантной защиты.

## ГЛАВА 5 УСТОЙЧИВОСТЬ *G. MAX* И *G. SOJA* К БИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ

Урожай сои в значительной степени зависит от влияния целого ряда различных факторов, в том числе поражения болезнями и вредителями. Особенно вредоносны воздушно-капельно-семенные инфекции: пероноспороз, септориоз, церкоспороз, бактериоз, которые освоили в качестве дополнительной экологической ниши семена и в связи с этим приспособились к передаче инфекций из года в год (Заостровных В.И., Дубовицкая Л.К., 2003).

У растений нет специализированных органов иммунной системы, но растительные клетки способны распознавать «свое» и «чужое» и отторгать генетически чужеродное. Процесс обезвреживания и утилизации всего чужеродного растительному организму является результатом сложного многоступенчатого течения физиолого-биохимических процессов (Андреева В.А., 1988).

В зараженном растении происходят существенные физиологические нарушения метаболизма (изменяется интенсивность фотосинтеза, дыхания и транспирации, задерживается отток ассимилянтов и т.д.), т.е. наблюдаются почти те же симптомы, что и при воздействии на растения неблагоприятных факторов абиотической среды.

Воздействие биотических стрессоров приводит к ответу растений, в основных чертах сходному с ответом на абиотические стрессоры (Тарчевский И.А., 2002; Neumann D. et al., 1989; Gill S.S., Tuteja N., 2010), он характеризуется совокупностью неспецифических реакций (Карпун Н.Н., Янушевская Э.Б., Михайлова Е.В., 2015).

Патогенные бактерии и грибы генерируют АФК для разрушения тканей организма-хозяина. Один из неспецифических путей запуска ответных реакций растений и синтеза защитных белков при патогенезе связан с образованием АФК (Bolwell G.P., 1999). АФК убивают патогенные

микроорганизмы, инфицированные или злокачественные клетки организма-хозяина, регулируют ионный транспорт и морфогенез (Лабас Ю.А. и др., 2010).

Процесс генерации АФК в растениях имеет двухфазный характер (Baker B., Zambyski P., Staskawicz B., 1997; Harding S.A., Roberts D.M., 1998; Dorey S. et al., 1999). Первый всплеск уровня АФК короток (1-2 часа), неспецифичен и наблюдается при инфицировании как вирулентными, так и авирулентными патогенами (Тарчевский И.А. 2002). Вторая фаза более продолжительна по времени, проявляется только в несовместимой системе и положительно коррелирует с развитием устойчивости к патогену (Hammond-Kosack K.E., Jones J.D.G., 1996; Wu H. et al., 1997; Harding S.A., Roberts D.M., 1998; Veronese P. et al., 2003). Предполагается, что первый всплеск уровня АФК сопряжен с сигнальными системами (Тарчевский И.А., 2002) и приводит к активации специфических защитных генов. В результате проявляются характерные метаболические реакции, обеспечивающие эффективную защиту. Двухфазный характер продукции АФК описан для растительных клеток в ответ на действие элиситоров (Baker C.J., Orlandi E.W., 1995). Известно, что в растительных организмах АФК при патогенезе выполняют сигнальную и защитную функции (Grant J.J., Loake G.J., 2000; Neill S., Desikan R., Hancock J., 2002).

Растения располагают разными механизмами (генетическими, физиологическими, биохимическими, морфологическими), обеспечивающими их устойчивость к болезням. Реакции растений, возникающие в ответ на инфицирование фитопатогенами, могут протекать с различной скоростью. У восприимчивых к патогену растений ответные реакции протекают вяло, защитные вещества образуются медленно и в низких концентрациях, и поэтому патоген успевает сформировать инфекционные структуры. У устойчивых к патогену растений ответные реакции на инфицирование носят взрывной характер, токсичные вещества в зоне инфицирования накапливаются быстро и в высоких концентрациях, в

результате чего происходит быстрая гибель зараженных клеток вместе с патогеном (Яруллина Л.Г., 2006; Lee S.C., Hwang B.K., 2005).

Большое количество работ отечественных и зарубежных исследователей посвящено изучению механизма активной защиты растений при поражении их грибными заболеваниями (Метлицкий Л.В. и др., 1976; Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л., 1985; Яруллина Л.Г., 2006; Максимов И.В., Яруллина Л.Г., 2015; Sohi H.S., Raval P.D., 1983; Harms H., Terbea M., 1984; Malmberg A., Theander O., 1984; Toyoda K. et al., 2002).

При инфицировании растений фитопатогенными микроорганизмами запускается синтез полимера лигнина, создающего барьер на пути проникновения патогена в растительную клетку (Дьяков Ю.Т. и др., 2001; Яруллина Л.Г., Ибрагимов Р.И., 2006; Mader M., Ambler-Fixher V., 1982; Bolwell G.P., Daudi A., 2009). Одновременно с лигнификацией клеточной стенки растений происходит образование токсичных для патогенных грибов фенольных метаболитов (Lattanzio V., Lattanzio V.M.T., Cardinali A., 2006; Miedes E. et al., 2014). Многочисленными исследованиями установлена важная роль в реакциях растений на поражение фитопатогенными грибами каратиноидов (Kono A., 1965), фитоалексинов (Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л., 1973; 1976; Лутова Л.А., Шумилина Г.М., 2003; Чесноков Ю.В., 2007; Фундаментальная ..., 2012; Tjamos E.C., Smith I.M., 1974; Hayashi H. et al., 1992; Tsuji J. et al., 1992), фитогормонов (Шакирова Ф.М., 2001; Максимов И.В., Яруллина Л.Г., 2015; Choi J. et al., 2011; Veselova S.V. et al., 2016; Di X., Takken F.L.W., Tintor N., 2016). В растениях обнаружены интерфероподобные белки, которые существуют некоторое время и участвуют в защитных механизмах (Antoniw J.F. et al., 1980; Kassanis V., 1981; van Loon L.C., 1982). Известно, что важную роль в развитии устойчивости к патогенезу играет синтез и накопление PR-белков (Чесноков Ю.В., 2007; Фундаментальная ..., 2012; Dangl J.L., Jones J.D.G., 2001). Вследствие воздействия стрессовых белков активизируются ферментные системы, происходит стабилизация мембран, повышается активность

функционирования митохондрий и хлоропластов (Чиркова Т.В., 2002; Карпун Н.Н., Янушевская Э.Б., Михайлова Е.В., 2015).

Среди ферментов, участвующих в регуляции метаболизма, большую роль играет пероксидаза. Обширный материал накоплен в литературе об участии пероксидазы в формировании устойчивости растений к возбудителям болезней (Рубин Б.А., Арциховская Е.В., Аксенова В.А., 1975; Андреева В.А., 1988; Минибаева Ф.В., Гордон Л.Х., 2003; Граскова И.А., 2004; 2008; Юсупова З.Р., Хайруллин Р.М., Максимов И.В., 2006; Максимов И.В. и др., 2006; 2010; Кумейко Т.Б., Ольховская Т.А., 2009; Bates D.C., Chant S.R., 1970; Gaspar T., Penel C., Thorhe T., 1982; Paranidharan V. et al., 2003; Radhakrishnan N. et al., 2009).

G.L. Farkas и M.A. Stahmann (1966) утверждают, что наибольшая активность фермента отмечается в растениях с некротической реакцией и гораздо меньшая – в растениях с хлоротичными симптомами. На фоне некротических процессов показано увеличение синтеза РНК и снижение содержания гистонов в ядре (Shaw M., 1967). Одновременно показано изменение электрофоретического спектра и общее увеличение активности пероксидазы, фенолоксидазы и других ферментов.

Принимая участие в синтезе лигниноподобных веществ, пероксидаза имеет отношение к созданию механического барьера на пути инфекции, как при заживлении поранений, так и в случае заражения (Гамбург К.З., Рекославская Н.И., Швецов С.Г., 1990; Joseph L.M., Koon T.T., Man W.S., 1998; Hawkins S., Boudet A., 2003).

В ряде работ показано, что активность пероксидазы коррелирует с устойчивостью к патогенам. Так, в корнях устойчивой к бактериальным болезням линии сорта сои Кларк 63 активность пероксидазы в три раза выше, чем в корнях чувствительной линии сорта Кларк (Urs N.V.R., Dunleavy J.M., 1974).

В экспериментах с разными сортами пшеницы Б.А. Рубин и соавторы (1974) установили, что все устойчивые к стеблевой и бурой ржавчине

образцы отличались от восприимчивых сортов более значительным увеличением активности пероксидазы. Активирование пероксидазы под влиянием инфекции является характерной ответной биохимической реакцией, по которой можно судить об устойчивости растений. Повышение активности фермента пероксидазы идет параллельно с формированием приобретенной устойчивости (Рубин Б.А., Ладыгина М.Е., 1977; Андреева В.А., 1988; Vegetti G., Conti G.G., Pesci P., 1975).

И.А. Граскова (2004; 2008) изучала влияние бактериального патогена вирулентного штамма 5369 возбудителя кольцевой гнили картофеля *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* на активность пероксидазы в различных тканях растений картофеля, выращенных в стерильных условиях. Показано, что при корневом заражении растения активность фермента возрастала в клетках всех типов тканей (корни, листья, стебли). В тканях устойчивых сортов картофеля эта активность была значительно выше, чем у восприимчивого сорта, причем сам патоген пероксидазной активностью не обладал.

Однако повышенная пероксидазная активность не всегда коррелирует с устойчивостью и не всегда её индуцирует. Об этом свидетельствуют исследования (Чигрин В.В. и др., 1968; Seevers P.M., Daly J.M., 1970; Seevers P.M., Daly J.M., Cathedral F.F., 1971; Daly J.M., 1972), в которых установлено, что активность пероксидазы в пораженных грибной инфекцией растениях устойчивых сортов не изменяется, а у восприимчивых увеличивается или изменяется одинаково у устойчивых и восприимчивых сортов.

G.G. Conti et al. (1982) полагают, что пероксидаза непосредственно не включается в защитный механизм, но может играть важную роль в биохимических процессах, ведущих к формированию индуцирующего фактора устойчивости.

Ряд исследователей пришли к выводу, что активация пероксидазы в тканях инфицированных растений может происходить, во-первых, за счет пероксидазы, синтезируемой самим паразитом; во-вторых, за счет активации



имеющихся в клетке изоэнзимов, которая может быть вызвана либо воздействием различных соединений, образуемых паразитом или клеткой растения под влиянием инфекции, либо изменением физико-химического состояния самого белка фермента; третий источник увеличения активности происходит за счет синтеза ферментного белка *de novo* (Рубин Б.А., Будилова Е.В., 1970; Ладыгина М.Е., Таймла Э.А., Рубин Б.А., 1970; Ладыгина М.Е., 1971; Farkas G.L., Stahmann M.A., 1966; Solylyviosy F. et al., 1967; Chant S.R., Bates D.C., 1970; Lagrimini M.L. et al., 1997).

Есть сведения о том, что изоферменты пероксидазы можно рассматривать как индикаторы реакции растений на воздействие фитопатогенов. В листьях разных сортов пшеницы, устойчивых и восприимчивых к стеблевой ржавчине, при заражении значительно повышалась активность пероксидазы и изменялся изоэнзимный спектр. Её возрастание всегда было связано с появлением одного (9-го) изоэнзима. При 25°C пшеница теряла устойчивость, при этом активность 9-го изоэнзима исчезала (Seevers P.M., Daly J.M., Catedral F.F., 1971). Эти данные ещё раз подчеркивают важную роль пероксидазы в системе защитных реакций растения.

В листьях устойчивого генотипа подсолнечника Анджана и соавторы (Анджана Г. и др., 2007) выявили экспрессию трех изоформ пероксидазы (ПО1, ПО2, ПО3), которые были обнаружены через 2 и 12 часов после заражения *Alternaria helianthi*. В листьях восприимчивого генотипа изоформа ПО2 присутствовала спустя 24 и 48 часов после инкубации с патогеном, изоформа ПО3 обнаружилась через 24 часа. Усиление экспрессии отдельных изоформ пероксидазы в растениях восприимчивого генотипа на поздних стадиях заражения может способствовать проникновению патогена путем повышения содержания свободных радикалов внутри клетки и ускорения процесса гибели клеток (Govrin E.M., Levine A., 2000; Mayer A.M., Staples R.C., Gil-ad N.L., 2001; Able J.A., 2003).

В корнях растений сои, устойчивых к *Phytophthora megasperma* var *sojae*, после поражения появляется одна дополнительная зона белков с пероксидазной активностью, а у восприимчивого идентифицированы две зоны (Но Н.Н., Waever E., 1970).

Литературные данные о роли каталазы в формировании взаимоотношений хозяин – паразит противоречивы, однако рядом авторов установлено, что каталазы необходимы для устойчивости растений к фитопатогенам (Maksimov I.V. et al., 2013; Zhang M. et al., 2015). По данным S. Vir, J. Grewal (1975), *Ascochyta rabiei* индуцирует в тканях нута устойчивого сорта увеличение каталазной активности и снижение её у восприимчивых. В ряде работ показано, что при возрастании активности каталазы содержание перекиси водорода уменьшается и не позволяет развиваться устойчивости, вследствие чего возрастает восприимчивость растений к патогенам (Озерецковская О.Л. и др., 2006; Титова С.А., 2014). Рост каталазной активности рассматривается в качестве защитной реакции клеток, направленной на их сохранение при биотическом стрессе на более поздних стадиях его воздействия (Шакирова Ф.М., 2001).

Накопленный фактический материал в области генетического и биохимического исследования изоферментных систем свидетельствует о возможности их использования в качестве генетических маркеров для оценки устойчивости растений к различным заболеваниям (Edreva A.M., Georgieva I.D., Cholakova N.I., 1989; Alcazar M.D. et al., 1995; Tamas L., Fric F., 1995; Hanson L.A. et al., 1997; Puchalski J., Klim P., Buczynska B., 1998; Repka V., Fischerova I., 1998; Gelvonauskis B., Siksnianiene J., 2001).

Таким образом, между устойчивыми и восприимчивыми растениями имеются различия, которые связаны с защитными реакциями против инфекции. Потенциал устойчивости существует во всех растениях, и его реализация осуществляется вследствие использования уже имеющихся механизмов устойчивости или стимулирования новых. Для определения роли биохимических механизмов в формировании устойчивости растений сои к

грибным болезням нами была определена энзиматическая активность (пероксидазы, каталазы) в корнях, листьях и семенах сои. Изучение воздействия биотических факторов на растения сои имеет не только теоретическое значение, но и практический интерес, так как затрагивает вопросы управления болезнью на метаболическом уровне, позволяет более объективно подойти к оценке и отбору исходного материала для селекции, разработать наиболее эффективную систему интегрированной защиты растений.

## **5.1 Устойчивость сои к поражению почвенной (корневой) инфекцией**

### **5.1.1 Влияние погодных условий на развитие корневой гнили сои**

Наиболее вредоносным заболеванием на посевах сои является корневая гниль. Микрофлора пораженных корней сои в Приамурье разнообразна и формируется в основном из микрофлоры почвы и семян. В зависимости от вида возбудителя различают: фузариозную, ризоктониозную, аскохитозную корневые гнили. Они широко распространены во всех исследованных почвах соевых полей, а под дикой соей встречаются редко или отсутствуют (Жуковская С.А., 1977). Это заболевание передается через почву и растительные остатки, на которых возбудители могут сохраняться длительное время (5-10 лет), и проявляется в поражении корней (рис. 44). Установлено, что наиболее часто корни растений сои поражались *Fusarium solani* (47,3-69,4%), *F. oxysporum* (20,1-23,2%), значительно реже *F. moniliforme* (1,5-4,3%), очень редко *F. gibbosum* (Заостровных В.И., Дубовицкая Л.К., 2003).

Представители рода *Fusarium* являются факультативными паразитами (некротрофами), рост и развитие, которых происходит в тканях растения, убитых токсинами патогена (Максимов И.В., Яруллина Л.Г., 2015). Действие

токсинов на растительные ткани вызывает патологические нарушения. При острой форме болезни могут наступить увядание и гибель растений, при этом урожай снижается на 30-40%.



Рисунок 44 – Фузариозная корневая гниль

Распространенность и развитие заболевания увеличивается по фазам развития сои, интенсивно поражаются растения от фазы всходов до цветения, максимум приходится на фазу бобообразования. В фазе первого тройчатого листа распространенность корневой гнили составляла 34,2-48,3% при развитии болезни 5,7-11,0% (среднее по сортам). К фазе цветения болезнь распространялась быстрее в 1,5-2,4 раза от первоначального уровня. Степень развития корневой гнили в фазе образования бобов в среднем по сортам за три года составила 11,5-30,3% при частоте встречаемости 64,2-81,7% (рис. 45, прил. Л, табл. Л.1). Наибольшей устойчивостью к корневым гнилям обладал сорт Гармония, наименьшей – Соната. В годы проведения исследований на корнях формы КА 1344 данное заболевание визуально не выявлено, так как патоген может маскироваться под темноокрашенные корни дикорастущей сои.

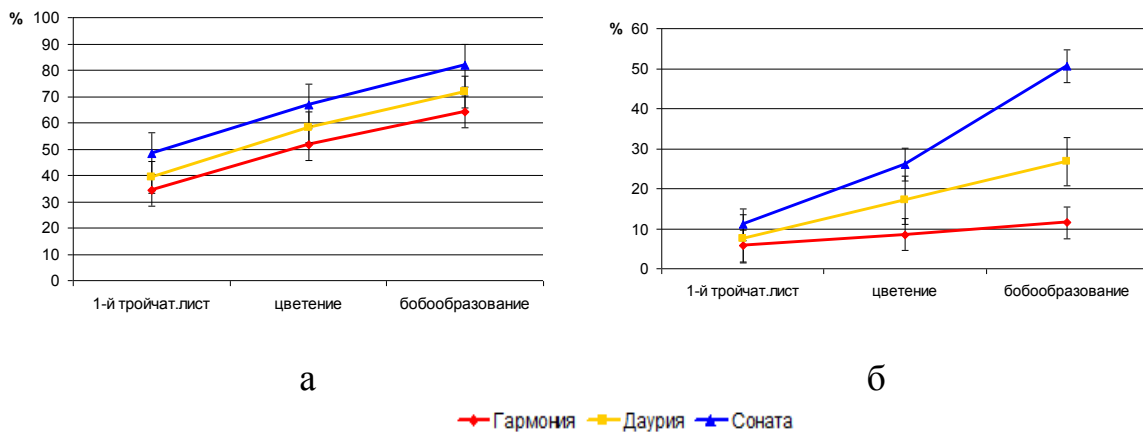


Рисунок 45 – Динамика распространённости (а) и развития (б) корневой гнили, %, среднее за 2008-2010 гг.

Интенсивность распространения и развития болезней культурных растений определяется характером взаимоотношений трех компонентов: возбудителя болезни, растения-хозяина и внешней среды (Гофман А.В., 2007). Пораженность растений сои корневыми гнилями зависела от погодных условий вегетационного периода. Известно, что для возбудителей корневых гнилей характерна способность к развитию в широких пределах температуры и влажности, и уровень развития заболевания определяется особенностями реагирования сои на эти факторы. Самым благоприятным для развития корневой гнили был прохладный и дождливый 2009 год. Количество осадков составило 210% от климатической нормы в фазе первого тройчатого листа, это способствовало ослаблению растений сои и повышению восприимчивости к патогенам. Это привело к накоплению инфекции и дальнейшему развитию корневой гнили на растениях сои. Условия, неблагоприятные для интенсивного роста и развития сои, явились благоприятными для патогена. В фазе цветения развитие болезни составило 21,2%, к периоду уборки – 33,0%.

Наименьшее поражение растений сои отмечено в 2010 году, который характеризовался повышенным температурным режимом и засушливостью в фазе первого тройчатого листа и рекордным количеством осадков в фазе цветения.

Сложившиеся погодные условия препятствовали заражению растений, так как засуха затрудняет распространение патогенов. В фазе цветения выпало рекордное количество осадков (267 мм), что составило 215% от климатической нормы, однако слишком высокое содержание влаги в почве для возбудителей корневой гнили вредно, так как затрудняет снабжение их кислородом. При таких условиях развитие болезни составило 15,5% в фазе цветения, максимум (28,3%) приходился на фазу образования бобов.

Корреляционный анализ показал, что связь степени поражения растений сои корневой гнилью с осадками была сильной положительной и отрицательной средней силы с температурой воздуха в фазе первого тройчатого листа (табл. 37). В последующие фазы развития сои степень её поражения отрицательно коррелировала с осадками, но связь была слабой.

Таблица 37 – Коэффициенты корреляции между степенью поражения корневой гнилью сортов сои и гидротермическими факторами

Факторы	Коэффициенты корреляции по фенологическим фазам		
	первый тройчатый лист	цветение	бобообразование
Сумма осадков за соответствующую фазу, мм	0,714*	-0,350	-0,330
Сумма осадков за период вегетации, мм	-	-	0,570
Среднесуточная температура воздуха за соответствующую фазу, °С	-0,662	-0,306	-0,410
Среднесуточная температура воздуха за период вегетации, °С	-	-	-0,598

Примечание: \* – статистически значимые изменения при  $p < 0,05$  ( $n = 9$ ,  $r_{\text{крит}} = 0,666$ )

В результате проведенных исследований отмечено наименьшее поражение растений корневой гнилью в 2010 году, а наибольшее – в 2009 году, который характеризовался прохладной и дождливой погодой в начале вегетации сои. Распространенность и развитие заболевания увеличивается по фазам развития сои, интенсивно поражаются растения от фазы всходов до цветения, максимум приходится на фазу бобообразования. Наибольшей устойчивостью к корневым гнилям обладал сорт Гармония, наименьшей – сорт Соната.

### **5.1.2 Изменение энзиматической активности в корнях и листьях сои при поражении возбудителями корневой гнили**

Воздействие возбудителя и растения-хозяина вызывает значительные изменения в функциональном состоянии растения, что прежде всего отражается на уровне ферментативной активности. В исследованиях, проведенных совместно с Л.К. Дубовицкой и С.А. Титовой, было установлено изменение энзиматической активности в корнях и листьях растений, пораженных корневой гнилью (Семенова Е.А., Дубовицкая Л.К., Титова С.А., 2014).

Корни первыми среди других органов сталкиваются с возбудителями болезней и вступают в борьбу с ними. При этом пероксидаза, как важнейшая каталитическая система, задействована в формировании защитной реакции растений на внедрение патогена и, в частности, в регуляции уровня перекиси водорода в клетках. Так, у сорта Гармония активность этого фермента в пораженных корнях увеличилась в 1,6 раза (рис. 44А, прил. М. табл. М.1). Вероятно, высокая активность пероксидазы в корнях устойчивых сортов сои наряду с другими механизмами защиты обеспечивает способность растений противостоять действию возбудителя. Снижение величины этого показателя отмечено в пораженных корнях сортов Соната и Даурия, причем в большей степени (в 2,3 раза) у сорта Соната. По литературным данным (Серова З.Я.,

Подчуфарова Г.М., Гесь Д.К., 1982), такой характер изменения активности пероксидазы свойственен восприимчивым к заболеваниям растениям.

Известно, что заражение вызывает изменение метаболизма в органах, отдаленных от места внедрения и локализации патогена (Граскова И.А. и др., 2004; Яруллина Л.Г., Максимов И.В., Муртазина Г.Ф., 2005). В связи с этим мы определили активность ферментов в листьях растений при поражении корней корневой гнилью в период максимального развития заболевания. У сорта Гармония активность пероксидазы увеличивается не только в корнях, но и в листьях, которые не контактировали с патогеном (рис. 46А, прил. М, табл. М.3).

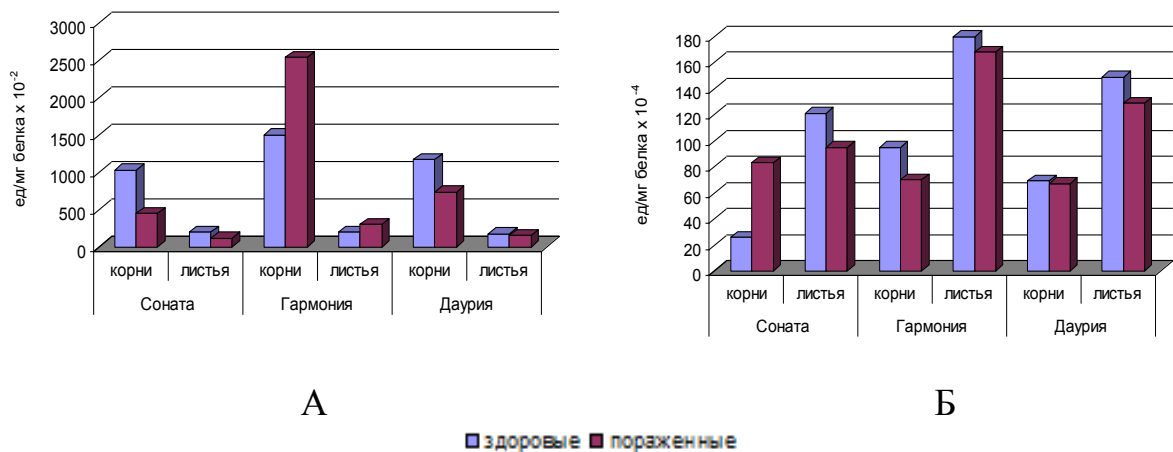


Рисунок 46 – Удельная активность пероксидазы (А) (ед/мг белка x 10<sup>-2</sup>) и каталазы (Б) (ед/мг белка x 10<sup>-4</sup>) в корнях и листьях сои, пораженной корневой гнилью, среднее за 2008-2010 гг. (фаза бобообразования)

У сортов Соната и Даурия, как в листьях, так и в корнях пораженных растений, она была ниже, чем в здоровых органах. Согласно существующим представлениям о пероксидазе как маркере системной устойчивости растений при патогенезе, можно предположить участие фермента и в развитии системной устойчивости сои к корневой гнили.

Для оценки взаимосвязи степени поражения растений сои корневой гнилью с активностью пероксидазы был проведен линейный



корреляционный анализ, который позволил выявить отрицательную связь между этими величинами (табл. 38).

Таблица 38 – Коэффициенты корреляции между удельной активностью пероксидазы в корнях сои и степенью поражения корневой гнилью

Фенологическая фаза	Коэффициенты корреляции
Первый тройчатый лист	-0,518
Цветение	-0,746*
Бобообразование	-0,855**

Примечание: \* – статистически значимые изменения при  $p < 0,05$  ( $n = 9$ ,  $r_{\text{крит}} = 0,666$ ); \*\* – статистически значимые изменения при  $p < 0,01$  ( $r_{\text{крит}} = 0,798$ )

Установлена отрицательная связь между удельной активностью пероксидазы и степенью поражения растений, наиболее сильная сопряженность отмечена в фазах цветения ( $r = -0,746$ ,  $p < 0,05$ ) и бобообразования ( $r = -0,855$ ,  $p < 0,01$ ), т.е. чем выше активность фермента, тем ниже балл поражения корней сои.

Каталаза так же, как и пероксидаза направляет метаболизм клетки на создание неблагоприятных условий для патогена. Инфицирование корней привело к снижению активности каталазы: у устойчивого сорта Гармония ~ в 1,4 раза и её увеличению в 3 раза у восприимчивого сорта Соната. У сорта Даурия, занимающего промежуточное положение по устойчивости к корневой гнили, активность фермента достоверно не изменялась по сравнению со здоровыми корнями (рис. 46Б, прил. М, табл. М.2). Повышение активности каталазы способствовало формированию совместимых отношений в комбинации «хозяин-паразит», так как снижение концентрации перекиси водорода лимитирует реакции, катализируемые пероксидазой. Под влиянием заражения сои корневой гнилью активность каталазы снизилась в листьях всех сортов, но при этом была выше у устойчивого сорта Гармония (рис. 46Б, прил. М, табл. М.4).

Изучение зависимости поражения сои корневой гнилью от активности каталазы показало, что связь с каталазной активностью носит положительный характер, однако в фазе бобообразования была сильной отрицательной ( $r = -0,746$ ,  $p < 0,05$ ) (табл. 39).

Таблица 39 – Коэффициенты корреляции между удельной активностью каталазы в корнях сои и степенью поражения корневой гнилью

Фенологическая фаза	Коэффициенты корреляции
Первый тройчатый лист	0,557
Цветение	0,785*
Бобообразование	-0,746*

Примечание: \* – статистически значимые изменения при  $p < 0,05$  ( $n = 9$ ,  $r_{\text{крит}} = 0,666$ )

При поражении корневой инфекцией растений сои наблюдается как индукция синтеза пероксидаз, так и ингибирование множественных молекулярных форм фермента, обнаруженных в контроле (здоровые растения). У сорта Гармония в здоровых корнях идентифицировано 6 зон с пероксидазной активностью. При инфицировании корней отмечается не только рост активности фермента, но и увеличение количества множественных молекулярных форм до 8, среди них выявлены дополнительные – с  $R_f$  0,38 и 0,49 (рис. 47А). Возрастание пероксидазной активности может быть обусловлено перераспределением активности форм или появлением новых. Последнее указывает на участие генетического аппарата растительной клетки в индукции наблюдаемого усиления активности фермента.

В здоровых корнях сорта Даурия обнаружено 6 множественных молекулярных форм с  $R_f$ : 0-0,02; 0,05; 0,12; 0,18; 0,25; 0,62. Под влиянием инфекции в корнях количество форм не изменяется, но происходит их перераспределение. В пораженных корнях восприимчивого сорта Соната, наоборот, количество форм сокращается по сравнению со здоровыми.

Отмечается исчезновение форм с Rf 0,07 и 0,45 в пораженных корнях. Для электрофоретических спектров пероксидазы исследованных сортов характерно наличие форм, которые присутствуют в здоровых и пораженных корнях сои, по-видимому, это формы генетически строго детерминированы.

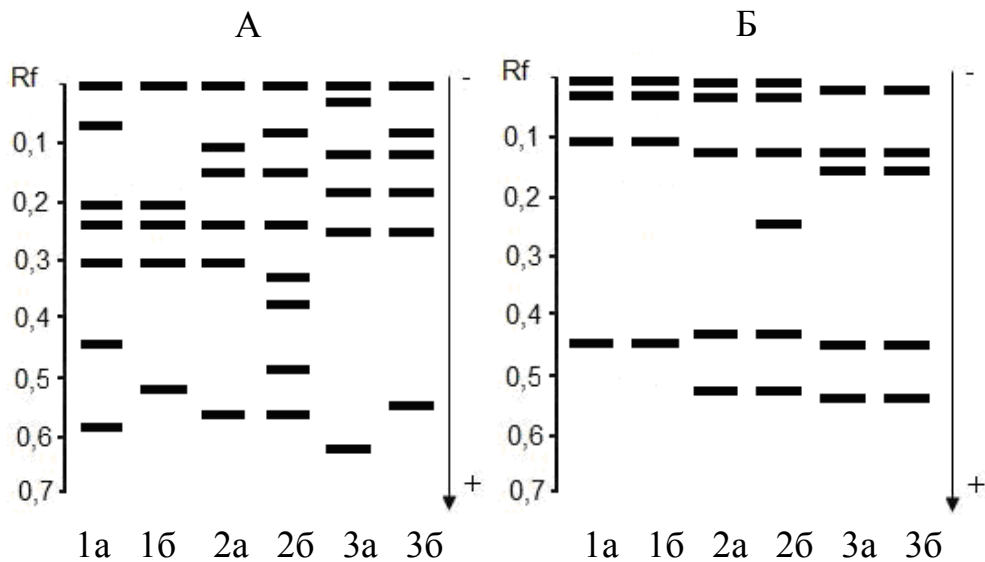


Рисунок 47 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы в корнях (А) и листьях (Б) сои, при поражении корней корневой гнилью: 1 – Соната, 2 – Гармония, 3 – Даурия; а – здоровые, б – пораженные

В листьях здоровых растений сорта Гармония было выявлено 5 форм пероксидазы, у растений с пораженными корнями появляется дополнительная форма со средней подвижностью Rf 0,24 (рис. 47Б). Возможно, данные формы фермента являются результатом индукции системной приобретенной устойчивости, направленной против последующих атак патогенов (Анджана Г. и др., 2007; Grant J.J., Loake G.J., 2000). У сортов Даурия и Соната в контрольных и пораженных растениях идентифицировано равное количество форм пероксидазы с одинаковой подвижностью, это свидетельствует о том, что поражение корней не привело к нарушению синтеза фермента в листьях.

Электрофоретические спектры каталазы здоровых корней сортов Гармония, Соната и Даурия представлены медленно- и среднеподвижными формами (рис. 48А). Инфицирование не повлияло на количество

множественных молекулярных форм каталазы, но несколько изменило электрофоретическую подвижность некоторых из них. Анализируя электрофоретические спектры каталазы листьев растений, следует отметить, что у устойчивых и восприимчивых сортов сои разницы между здоровыми и пораженными растениями не наблюдалось (рис. 48Б).

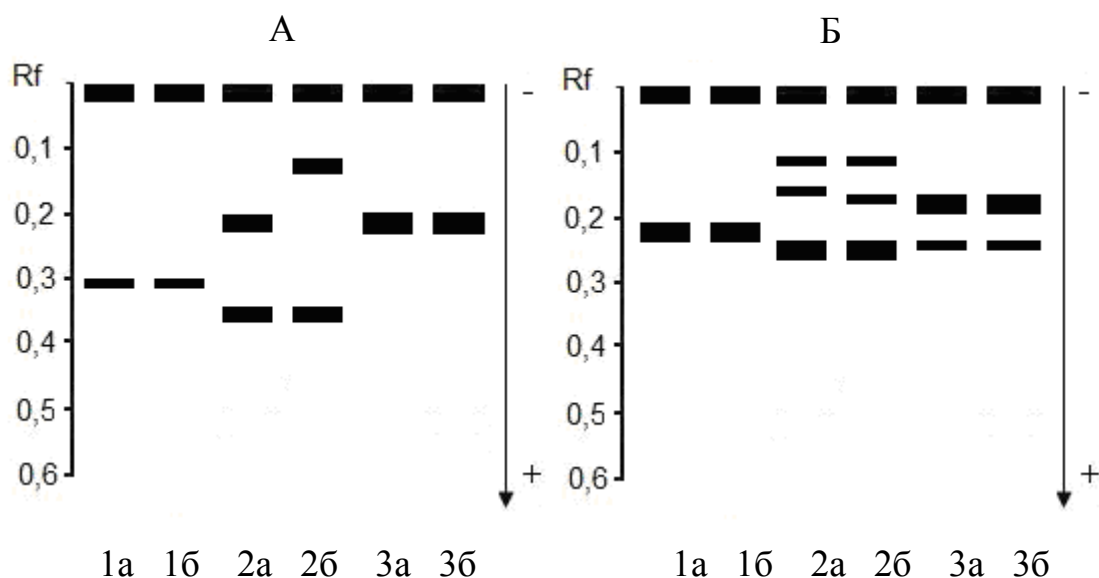


Рисунок 48 – Схемы электрофоретических спектров каталазы в корнях (А) и листьях (Б) сои, при поражении корней корневой гнилью: 1 – Соната, 2 – Гармония, 3 – Даурия; а – здоровые, б – пораженные

Таким образом, инфицирование корней *Fusarium solani* у устойчивого сорта Гармония приводит к увеличению, а у восприимчивого сорта Соната – к снижению удельной активности пероксидазы не только в корнях, но и в листьях, которые не контактировали с патогеном. Удельная активность каталазы, наоборот, была ниже в пораженных корнях сорта Гармония и выше у сорта Соната, при этом в листьях активность фермента ниже, чем в здоровых у всех сортов

При патогенезе корневой гнили только активность пероксидазы, выделенной из разных органов растений, изменяется одинаково, изменение активности других ферментов имеет разнонаправленный характер. Патоген индуцирует синтез множественных молекулярных форм пероксидазы в

корнях и листьях у сорта Гармония и ингибирует у сорта Соната. Эти данные ещё раз подчеркивают чрезвычайно важную роль пероксидазы в системе защитных реакций растения.

## **5.2 Устойчивость *G. max* и *G. soja* к поражению листостеблевыми инфекциями**

### **5.2.1 Влияние погодных условий на развитие листостеблевой инфекции *G. max* и *G. soja***

Основной средой обитания возбудителей листостеблевых инфекций являются вегетативные органы, дополнительной – генеративные органы растений. Распространяются возбудители из года в год благодаря сохранению их на растительных остатках и семенах. Они нуждаются в наличии капельно-жидкой влаги или высокой относительной влажности воздуха (80-100%) на всех этапах передачи: в период выделения пикноспор во внешнюю среду, при их распространении и при внедрении в ткани наземных органов растений (Заостровных В.И., Дубовицкая Л.К., 2003).

Из листостеблевых инфекций на Дальнем Востоке особо вредоносными являются септориоз и пероноспороз. Септориоз является одним из самых вредоносных заболеваний сои в регионе (рис. 49А). Возбудитель септориоза – несовершенный гриб *Septoria glycines* T. Hemmi, является факультативным сапрофитом (гемибиотроф). Патоген поражает живые ткани, но выживает и после отмирания хозяина, сохраняясь на растительных остатках (Максимов И.В., Яруллина Л.Г., 2015). Он характеризуется широкой органотропностью и легко переходит с одних органов на другие, поражая практически все надземные части растения: семядоли, листья, стебли, бобы (Дега Л.А., 2012). Распространенным и вредоносным заболеванием является пероноспороз, возбудителем пероноспороза или ложной мучнистой росы является *Perenospora manshurica*

(Naum.) Syd. Syn., облигатный паразит (биотроф) (рис. 49Б). Жизненный цикл биотрофов тесно связан с растением-хозяином, могут расти и развиваться в естественных условиях только на живых растениях (Максимов И.В., Яруллина Л.Г., 2015).



А

Б

Рисунок 49 – Листья сои, пораженные листостеблевой инфекцией: септориоз (А) и пероноспороз (Б)

Среди исследованных сортов культурной сои были как высоко, так и среднепоражаемые септориозом. Среднеспелые сорта Гармония и Даурия оказались более устойчивыми к данному заболеванию, чем раннеспелый сорт Соната, степень развития септориоза в фазе бобообразования варьировала в пределах 46,0-82,3% при распространенности болезни от 90,0 до 100,0% (рис. 50А, прил. Л, табл. Л.2).

Устойчивость сортов сои к *S. glycines* возрастает с увеличением их периода вегетации, что согласуется с результатами исследования Л.А. Дега (2012). Септориоз очень часто встречается и на растениях дикорастущей сои, *G. soja* может служить резерватом и накопителем инфекции для заражения культурной сои (Лещенко А.К., 1978). Степень поражения листьев дикорастущей сои в фазе бобообразования в среднем по годам составляла 31,2% при распространенности 61,7%.

Во все годы исследований грибок *Peronospora manshurica* (Naum.) Syd. Syn начинал развиваться на сое в фазе пятого настоящего листа. Развитие болезни у сортов культурной сои в фазе цветения составляло 20,7-31,4%, при распространенности 39,4-64,5% (рис. 50Б, прил. Л, табл. Л.3). Наиболее сильно поражались листья культурной сои в фазе бобообразования, развитие болезни составляло 52,9% при распространенности 97,0%, в отдельные годы поражалось до 100,0% растений.

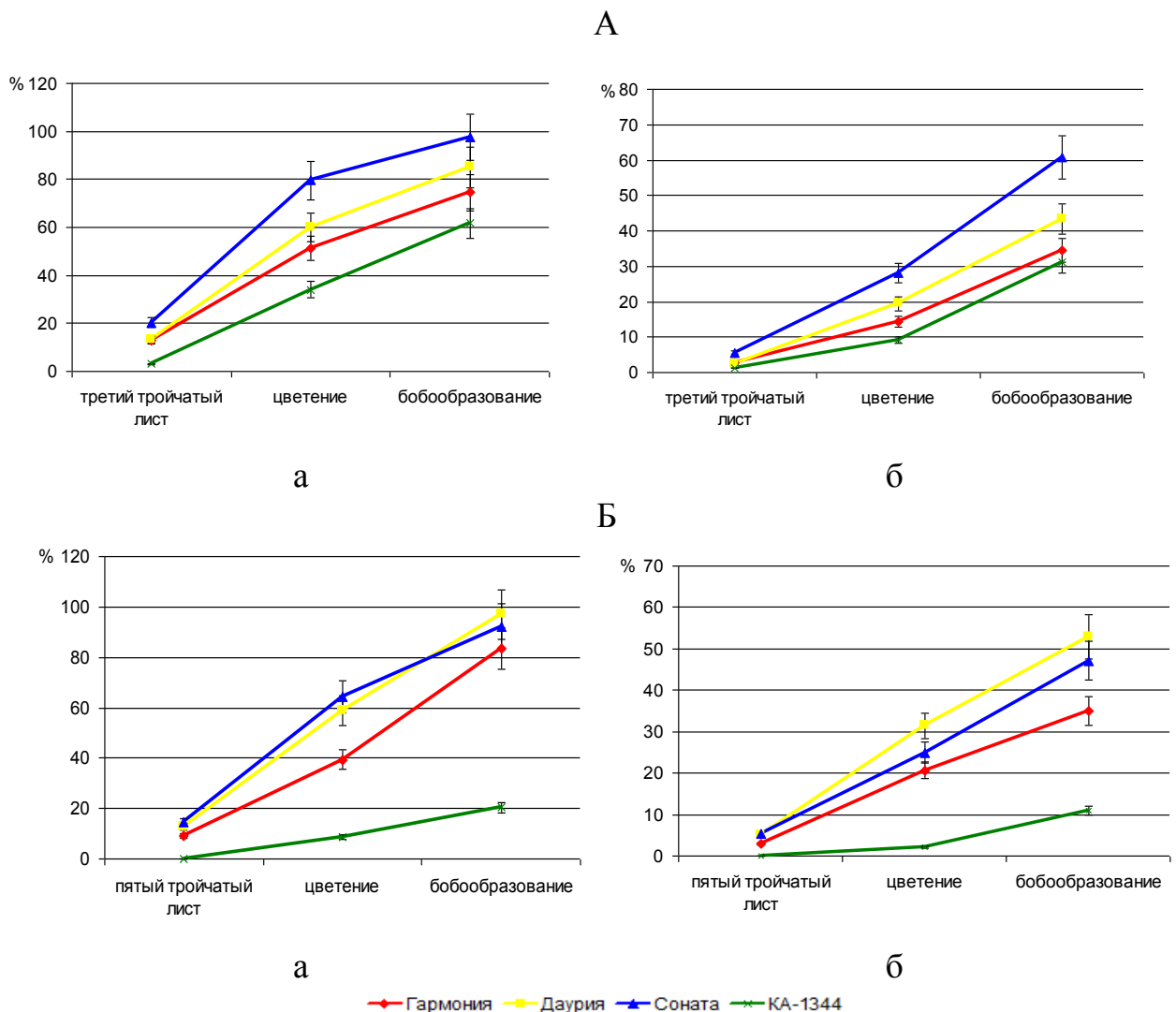


Рисунок 50 – Динамика распространенности (а) и развития (б) септориоза (А), пероноспороза (Б), %, среднее за 2008-2011 гг.

У сорта Гармония степень поражения пероноспорозом в фазе бобообразования варьировала в пределах 25,5-50,0%, у сорта Соната – 39,3-

56,2%. У сорта Даурия развитие болезни достигало 64,5% при распространенности 100,0%. За все четыре года исследования дикорастущая соя слабо поражалась пероноспорозом, на листьях были отмечены единичные некротические пятна. В фазе пятого тройчатого листа пораженных растений не наблюдалось, распространенность пероноспороза в фазе цветения не превышала 8,8% при развитии болезни 2,1%, к фазе бобообразования распространенность составила 20,4%, развитие – 11,0%.

Наибольшее развитие септориоз получил в 2008 году, однако в начале вегетационного периода погодные условия препятствовали заражению растений, так как длительная засуха затрудняла распространение патогенов. Среднесуточная температура воздуха в июне была выше среднемноголетних на 2°C, количество осадков составило 38 мм, что на 60 мм ниже среднемноголетних данных. Высокие температуры в июле и выпавшие осадки (98% от многолетней нормы) привели к развитию заболевания в фазе цветения, первоначальный уровень повысился в 13 раз. В фазе образования бобов развитие болезни продолжилось и составило 62,2%.

Самые неблагоприятные условия для развития патогена сложились в 2010 году. В период всходов и образования тройчатых листьев температура на поверхности почвы достигла 50°C, развитие септориоза находилось в депрессии. Распространение и заражение растений началось в первой декаде июля после выпадения осадков. Развитие заболевания долгое время было невысоким и лишь в конце августа возросло до 24,6%.

Для выяснения влияния погодных условий на развитие заболеваний сои были проанализированы величина среднесуточной температуры воздуха и сумма осадков в период вегетации сои (Семенова Е.А., Титова С.А., 2016). Статистически значимая связь между степенью поражения сои септориозом и гидротермическими показателями выявлена в фазе бобообразования: отрицательная с суммой осадков за период вегетации сои ( $r = -0,621$ ,  $p < 0,05$ ) и положительная со среднесуточной температурой ( $r = 0,535$ ,  $p < 0,05$ ) (табл. 40).



Таблица 40 – Коэффициенты корреляции между степенью поражения сои септориозом и гидротермическими факторами

Факторы	Коэффициенты корреляции по фенологическим фазам		
	третий тройчатый лист	цветение	бобообразование
Сумма осадков за соответствующую фазу, мм	0,208	-0,463	-0,421
Сумма осадков за вегетацию, мм	-	-	-0,621*
Среднесуточная температура воздуха за соответствующую фазу, °С	0,022	-0,004	0,535*
Среднесуточная температура воздуха за вегетацию, °С	-	-	-0,450

Примечание: \* – статистически значимые изменения при  $p < 0,05$  ( $n = 16$ ,  $r_{\text{крит}} = 0,497$ )

Благоприятные условия для развития пероноспороза сложились в 2009 году. Обильные осадки в июне (206% от климатической нормы) при температуре воздуха ниже средней многолетней на 1°С создали благоприятные условия для развития патогена. Дождливая погода в июле, повышенная относительная влажность воздуха, длительное сохранение росы на листьях способствовали быстрому распространению и прорастанию конидий гриба.

Вегетационный период 2010 года также характеризовался большим количеством осадков, но пероноспороз не получил широкого распространения, так как сильные ливневые дожди, прошедшие в июле, смывали с листьев конидии возбудителя и тем самым приостановили развитие заболевания. Июнь, июль и август 2011 года отличались высокой среднесуточной температурой воздуха, которая на 1-2°С была выше среднемноголетней, и незначительным выпадением осадков, что привело к умеренному развитию пероноспороза.

Согласно рассчитанным коэффициентам корреляции поражение растений сои возбудителем пероноспороза слабо связано с погодными условиями, однако, это не так, развитие пероноспороза зависит от благоприятного для патогена сочетания гидротермических факторов (табл. 41).

Таблица 41 – Коэффициенты корреляции между степенью поражения сои пероноспорозом и гидротермическими факторами

Факторы	Коэффициенты корреляции по фенологическим фазам	
	цветение	бобообразование
Сумма осадков за соответствующую фазу, мм	0,349	-0,221
Сумма осадков за вегетацию, мм	-	0,240
Среднесуточная температура воздуха за соответствующую фазу, °С	-0,254	0,280
Среднесуточная температура воздуха за вегетацию, °С	-	-0,319

Примечание: статистически значимые корреляции отсутствуют (n = 16)

Таким образом, наиболее сильно септориозом поражался сорт Соната, сорт Даурия – пероноспорозом. Сорт Гармония проявил среднюю устойчивость к данным заболеваниям, дикорастущая соя (форма КА 1344) оказалась устойчивой к пероноспорозу и среднеустойчивой к септориозу. Наибольшее развитие септориоза отмечено в 2008 году, который отличался высокими температурами за вегетационный период. Большое количество осадков в сочетании с пониженной температурой в 2009 году способствовало развитию пероноспороза на посевах сои.

## 5.2.2 Изменение энзиматической активности в листьях сои при поражении листостеблевыми инфекциями

Устойчивость или восприимчивость растений к болезням часто основана на регуляции синтеза ферментов. В качестве ответной реакции для борьбы с инфекцией усиливается интенсивность процессов обмена веществ, прежде всего окислительно-восстановительных процессов. Поэтому активность окислительно-восстановительных ферментов и число их изоферментов при поражении растений увеличивается (Плешков Б.П., 1980).

Поэтому важно, на наш взгляд, было провести исследование влияния фитопатогенов на растение-хозяина по изменению активности и множественных молекулярных форм ферментов, обеспечивающих нейтрализацию неблагоприятных факторов среды. Данные по изменению активности пероксидазы в листьях сои при заражении *S. glycinis* представлены в таблице 42 (прил. М, табл. М.5).

Таблица 42 – Удельная активность пероксидазы в листьях *G. max* и *G. soja* при поражении септориозом и пероноспорозом, ед/мг белка  $\times 10^{-3}$ , среднее за 2008-2011 гг.

Фенологическая фаза	Вариант	Сорт (форма*)			
		Соната	Гармония	Даурия	КА 1344*
		$\bar{X} \pm S\bar{x}$			
Третий тройчатый лист	Здоровые	243±52	227±36	201±19	363±12
	Пораженные: септориозом	200±39	933±79	126±7	655±15
	пероноспорозом	-	-	-	-
Цветение	Здоровые	361±20	331±42	379±27	487±28
	Пораженные: септориозом	409±59	599±94	363±7	932±11
	пероноспорозом	468±10	587±11	437±15	680±21
Бобообразование	Здоровые	986±18	1216±26	1007±14	1187±24
	Пораженные: септориозом	1002±19	3943±22	1575±39	4501±15
	пероноспорозом	1341±20	2059±20	1112±34	2378±35

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

Из них следует, что в листьях сорта Гармония, пораженных септориозом, активность пероксидазы увеличивается во все фазы развития сои. В пораженных листьях сорта Даурия активность пероксидазы увеличивается только в фазе бобообразования (в 1,6 раза по сравнению с контролем). В пораженных и здоровых листьях восприимчивого сорта Соната существенных отличий в активности пероксидазы не выявлено.

В пораженных листьях формы КА 1344 активность пероксидазы в фазе третьего тройчатого листа увеличивается в 1,8 раза по сравнению с контролем (здоровые листья). В ходе развития патологического процесса активность фермента растёт: в фазе цветения она увеличивается в 1,9 раза, в фазе образования бобов – в 3,8 раза. Это может быть связано как с появлением стрессовых изоформ пероксидазы, так и с увеличением синтеза этого фермента в ответ на инфицирование растений (Анджана Г. и др., 2007; Mader M., Ambler-Fixher V., 1982).

Активность пероксидазы в пораженных листьях сои отрицательно коррелировала со степенью поражения септориозом, связь была средней силы: чем выше активность фермента, тем ниже степень поражения. Статистически значимые изменения отмечены в фазе бобообразования ( $r = -0,525$ ,  $p < 0,05$ ) (табл. 43).

Таблица 43 – Коэффициенты корреляции между удельной активностью пероксидазы в листьях сои и степенью поражения септориозом

Фенологическая фаза	Коэффициенты корреляции
Третий тройчатый лист	-0,485
Цветение	-0,446
Бобообразование	-0,525*

Примечание: \* – статистически значимые изменения при  $p < 0,05$  ( $n = 16$ ,  $r_{крит} = 0,497$ )

Удельная активность каталазы в листьях сои, пораженных септориозом, в фазах третьего тройчатого листа и цветения ниже, чем в

контроле. Существенное снижение активности каталазы (в 2,2-3 раза) наблюдается в фазе образования бобов у всех исследованных сортов культурной и дикорастущей сои (табл. 44, прил. М, табл. М.7).

Таблица 44 – Удельная активность каталазы в листьях *G. max* и *G. soja* при поражении септориозом и пероноспорозом, ед/мг белка  $\times 10^{-4}$ , среднее за 2008-2011 гг.

Фенологическая фаза	Вариант	Сорт (форма*)			
		Соната	Гармония	Даурия	КА 1344*
		$\bar{X} \pm S\bar{x}$			
Третий тройчатый лист	Здоровые	69±4	36±2	32±6	23±2
	Пораженные: септориозом	50±5	17±2	17±3	10±1
	пероноспорозом	-	-	-	-
Цветение	Здоровые	82±4	79±5	74±10	75±5
	Пораженные: септориозом	56±12	42±5	47±8	41±8
	пероноспорозом	69±4	44±5	73±2	56±3
Бобообразование	Здоровые	121±8	163±17	138±16	226±10
	Пораженные: септориозом	54±4	62±7	44±2	78±8
	пероноспорозом	46±8	120±6	25±2	172±10

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

Снижение каталазной активности может быть обусловлено разрушением хлорофилла. Известно, что под воздействием большинства фитопатогенных грибов уменьшается количество хлорофилла в листьях, так как микроорганизмы разрушают хлоропласты. Согласно литературным данным, при частичном или полном разрушении хлорофилла всегда наблюдается падение каталазной активности (Рубин Б.А., Ладыгина М.Е., 1977).

Устойчивость сои к септориозу положительно коррелировала с удельной активностью каталазы в пораженных листьях в фазах третьего тройчатого листа ( $r = 0,962$ ,  $p < 0,01$ ) и цветения ( $r = 0,684$ ,  $p < 0,01$ ) (табл. 45).

Таблица 45 – Коэффициенты корреляции между удельной активностью каталазы в листьях сои и степенью поражения септориозом

Фенологическая фаза	Коэффициенты корреляции
Третий тройчатый лист	0,962**
Цветение	0,684**
Бобообразование	-0,305

Примечание: \*\* – статистически значимые изменения при  $p < 0,01$  ( $n = 16$ ,  $r_{\text{крит}} = 0,623$ )

Активность ферментов в листьях сои, инфицированных *P. manshurica*, определяли в фазы цветения и образования бобов (табл. 40, прил. Л, табл. Л.6). Листья, пораженные пероноспорозом, всех исследованных *G. max* и *G. soja* не имели некрозов, отмечены только хлоротичные пятна, в наибольшей степени были поражены листья сорта Даурия.

Удельная активность пероксидазы в листьях дикорастущей сои, устойчивой к пероноспорозу, увеличивается в фазе цветения – в 1,4 раза, в фазе бобообразования – в 2 раза. Сорта Гармония и Соната, характеризующиеся средней устойчивостью к пероноспорозу, отличаются высокой активностью пероксидазы в пораженных листьях: в фазе бобообразования она повышается в 1,7 и 1,3 раза соответственно. У сильновосприимчивого сорта Даурия активность фермента в пораженных листьях повышается незначительно (на 29%) по сравнению с контролем.

Коэффициенты корреляции между устойчивостью сои к пероноспорозу и удельной активностью пероксидазы в пораженных листьях сои показали, что связь между этими величинами отрицательная средней силы, чем выше активность пероксидазы, тем ниже степень поражения листьев (табл. 46).

Таблица 46 – Коэффициенты корреляции между удельной активностью пероксидазы в листьях сои и степенью поражения пероноспорозом

Фенологическая фаза	Коэффициенты корреляции
Цветение	-0,595*
Бобообразование	-0,545*

Примечание: \* – статистически значимые изменения при  $p < 0,05$  ( $n = 16$ ,  $r_{\text{крит}} = 0,497$ )

Заражение растений пероноспорозом, так же, как и септориозом, приводит к снижению активности каталазы. В фазе цветения она ниже, чем у здоровых растений, в 1,2-1,8 раза. В фазе бобообразования активность каталазы также была ниже в пораженных листьях, чем в здоровых: у дикорастущей сои – в 1,3 раза, у сорта Гармония – в 1,4 раза, у сорта Соната – в 2,6 раза, у сорта Даурия – в 5 раз (табл. 45, прил. М., табл. М.8).

Анализ коэффициентов корреляции показал наличие положительной связи средней силы между степенью поражения пероноспорозом и удельной активностью каталазы в пораженных листьях сои в фазе цветения. Однако в фазе бобообразования связь между анализируемыми параметрами была сильной отрицательной: чем ниже активность, тем выше степень поражения сои (табл. 47).

Таблица 47 – Коэффициенты корреляции между удельной активностью каталазы в листьях сои и степенью поражения пероноспорозом

Фенологическая фаза	Коэффициенты корреляции
Цветение	0,436
Бобообразование	-0,862**

Примечание: \*\* – статистически значимые изменения при  $p < 0,01$  ( $n = 16$ ,  $r_{\text{крит}} = 0,623$ )

Поскольку характер взаимодействия патогена и растения-хозяина зависит не только от патогена, но и от растения-хозяина, нами была

исследована активность изучаемых ферментов в листьях здоровых растений. Корреляционный анализ показал, что зависимости между устойчивостью сои к фитопатогенам и удельной активностью ферментов (пероксидазы, каталазы) в здоровых листьях растений слабые и иногда несущественные (табл. 48).

Таблица 48 – Коэффициенты корреляции между степенью поражения фитопатогенами и удельной активностью ферментов в здоровых листьях сои (в среднем по сортам)

Показатели	Коэффициенты корреляции по фенологическим фазам		
	третий тройчатый лист	цветение	бобообразование
Удельная активность пероксидазы в здоровых листьях сои	-0,316	-0,365	-0,066
Удельная активность каталазы в здоровых листьях сои	0,376	0,261	-0,162

Примечание: статистически значимые корреляции отсутствуют, (n = 16)

Следовательно, формирование совместимых или несовместимых взаимоотношений «растение-хозяин – патоген» не зависит от изначальной активности пероксидазы и каталазы в листьях сои, а зависит от изменения активности фермента в ответ на внедрение патогена.

Инфицирование листьев сои *S. glycines* привело к появлению дополнительных высокоподвижных форм пероксидазы (рис. 51А). В листьях всех исследованных растений, среднеустойчивых и восприимчивых, пораженных возбудителем септориоза, наблюдается появление высокоподвижных форм с Rf от 0,60 до 0,73. Согласно исследованиям S.R. Chant и D.C. Bates (1970), появление дополнительного изоэнзима



пероксидазы в листьях больных растений может быть связано с их преждевременным старением.

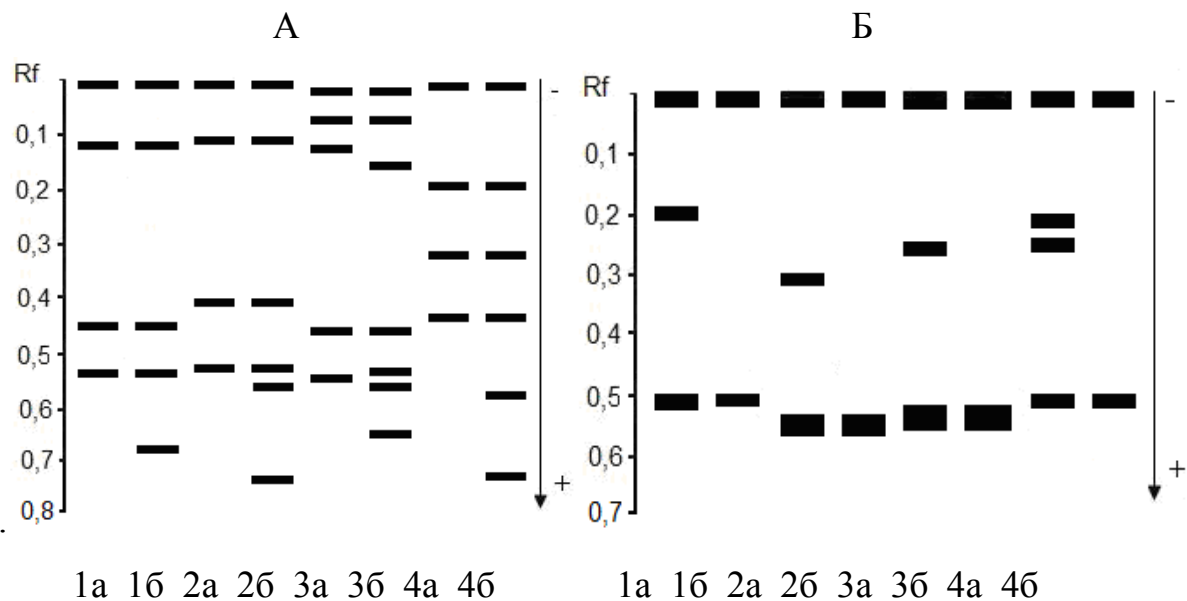


Рисунок 51 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы (А) и каталазы (Б) в листьях сои, пораженных септориозом: 1 – Соната, 2 – Гармония, 3 – Даурия, 4 – КА 1344; а – здоровые, б – пораженные

Заражение растений сои септориозом приводит не только к существенному снижению активности каталазы, но и уменьшению числа множественных молекулярных форм с каталазной активностью в листьях *G. max* и *G. soja* (рис. 51Б).

При поражении биотрофом *P. manshurica* в листьях сортов Гармония и Соната, которые характеризовались средней устойчивостью к данному патогену, качественных изменений в спектре пероксидазы не обнаружено (рис. 52А). В электрофоретическом спектре листьев *G. soja*, устойчивой к пероноспорозу, выявлена дополнительная форма пероксидазы с Rf 0,56, что вероятно, способствовало задержке роста и развития фитопатогена. Обнаруженную форму можно использовать в качестве маркера устойчивости сои к возбудителю пероноспороза. У восприимчивого сорта Даурия тоже появляется дополнительная высокоподвижная форма (Rf 0,67), но синтез этого компонента связан со старением листьев.

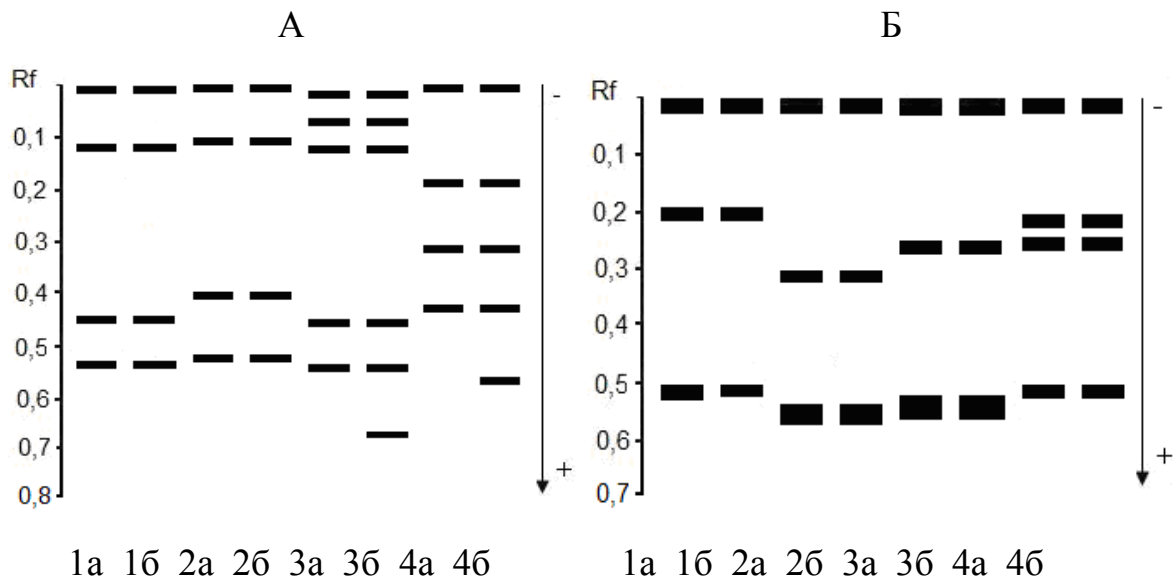


Рисунок 52 – Схемы электрофоретических спектров пероксидазы (А) и каталазы (Б) листьев сои, пораженных пероноспорозом: 1 – Соната, 2 – Гармония, 3 – Даурия, 4 – КА 1344; а – здоровые, б – пораженные

Заражение растений сои пероноспорозом не повлияло на качественный и количественный состав электрофоретических спектров каталазы (рис. 52Б). Инфицирование растений *S. glycines* представляет гораздо более значительный стресс, чем биотрофным патогеном.

Таким образом, изменение энзиматической активности зависит от генотипа растения и типа трофности возбудителя болезни. Заражение листьев сои патогенами, как с гемибитрофным (*S. glycines*) так и биотрофным (*P. manshurica*) типом питания, приводит к увеличению активности пероксидазы у среднеустойчивых сортов и снижению активности каталазы у всех исследованных образцов. Возбудитель септориоза приводит к увеличению гетерогенности пероксидазы и снижению гетерогенности каталазы. Возбудитель пероноспороза обладает меньшей патогенностью и не приводит к изменению электрофоретических спектров каталазы в листьях сои.

### **5.3 Устойчивость сои к заражению фитопатогенами семян и проростков**

#### **5.3.1 Влияние зараженности семян сои фитопатогенами на их биохимический состав и продуктивность**

Семена являются уникальной средой обитания для вредных организмов, особенно фитопатогенов. Вредные организмы, которые передаются через семенной материал, первыми проникают в проростки и всходы, вызывая или их гибель, или ингибирование ростовых процессов и развитие растений.

Во всех районах возделывания соя поражается различными возбудителями болезней, что приводит к значительному недобору урожая. Пораженные семена имеют низкую полевую всхожесть и жизнеспособность, являются первоисточниками распространения заболеваний сои. Кроме того, больные семена дают всходы с пораженными семядолями и растения с диффузной формой заболевания (Заостровных В.И., Дубовицкая Л.К., 2003).

В годы исследований семена изучаемых сортов в той или иной степени были заражены возбудителями аскохитоза, пероноспороза, антракноза, церкоспороза, фузариоза и бактериоза. В последние годы широкое распространение на семенах сои получил пурпурный церкоспороз, вызываемый грибом *Cercospora kikuchii* T. Matsu et Tomoyasu (Дубовицкая Л.К., Положиева Ю.В., Семенова Е.А., 2015).

Анализ семян показал, что все изучаемые сорта несут на семенах инфекцию, которая составляет от 2,40% (Гармония) до 3,92% (Даурия). Заселение семян сорта Даурия возбудителем пероноспороза составило (3,06%), бактериозом (0,30%), аскохитозом (0,20%). На семенах сорта Соната доминировали возбудители пероноспороза (1,19%), аскохитоза (0,60%) и бактериоза (0,42%). Семена сорта Гармония поражались возбудителями пероноспороза (0,87%), бактериоза (0,76%), пурпурного церкоспороза

(0,25%), аскохитоза (0,22%). На всех сортах отмечено поражение семян фузариозом, церкоспорозом и пурпурным церкоспорозом. Поражение антракнозом выявлено на семенах сортов Гармония (0,13%) и Даурия (0,06%), на семенах сорта Соната данное заболевание не выявлено.

Сорта сои со средней устойчивостью к септориозу, такие как Гармония и Даурия, имели урожайность на 15-31% выше, чем восприимчивый сорт Соната (табл. 49). У восприимчивого сорта Соната масса 1000 семян была ниже на 14,6-51,7 г, масса семян с растения снижается на 1,4-1,7 г.

Корреляционный анализ показал, что чем больше степень поражения сои септориозом, тем ниже её урожайность ( $r = -0,686$ ,  $p < 0,01$ ). Заражение сои пероноспорозом ( $r = -0,359$ ,  $p < 0,01$ ) не оказывает существенного влияния на урожайность сои, даже восприимчивый к пероноспорозу сорт Даурия имел высокую урожайность. Вероятно, это связано с тем, что заболевание проявляется поздно, максимум развития пероноспороза приходится на фазу налива семян, когда семена уже сформировались.

Содержание белка и незаменимых аминокислот в семенах, пораженных *P. manshurica*, не отличалось от здоровых (табл. 50).

Содержание жира незначительно снижается в пораженных семенах у всех исследованных сортов сои: у Сонаты на 1,05%; у Гармонии на 1,50%; у Даурии на 1,34% (табл. 51). Заражение семян сои *P. manshurica* не оказывает влияния на содержание насыщенных жирных кислот пальмитиновой и стеариновой в масле, но приводит к снижению олеиновой кислоты и увеличению линоленовой.

Таблица 49 – Показатели продуктивности сои, пораженной септориозом и пероноспорозом, 2009-2011 гг.

Сорт	Высота растений, см	Кол-во бобов, шт.	Кол-во семян, шт.	Масса семян с растения, г	Масса 1000 семян, г	Урожайность, ц/га
2009 г						
Соната	52,77	17,76	34,87	4,25	120,73	12,37
Гармония	41,62	18,83	40,85	4,91	126,22	16,77
Даурия	58,24	17,89	29,69	5,15	178,03	20,20
НСР <sub>05</sub>	2,66	3,36	1,56	0,73	2,44	2,19
2010 г						
Соната	93,18	23,96	49,78	6,55	121,12	19,30
Гармония	98,92	30,95	71,95	9,51	135,46	20,95
Даурия	84,49	29,60	56,06	10,5	167,81	26,34
НСР <sub>05</sub>	2,68	3,02	2,43	2,70	2,69	2,91
2011 г						
Соната	90,33	19,89	41,78	4,97	119,81	20,22
Гармония	76,41	18,19	44,29	5,57	143,69	22,45
Даурия	71,33	14,85	30,68	5,22	170,90	21,72
НСР <sub>05</sub>	2,63	2,63	2,92	2,74	2,72	2,66
Ср. по годам						
Соната	78,76	20,54	42,14	5,26	120,55	17,30
Гармония	72,32	22,66	52,36	6,66	135,12	20,06
Даурия	71,35	20,78	38,81	6,96	172,25	22,75
НСР <sub>05</sub>	8,11	4,68	11,97	2,22	13,08	1,11

Таблица 50 – Содержание белка и незаменимых аминокислот в семенах сои (здоровые и пораженные пероноспорозом), %, среднее за 2010-2011 гг.

Показатель	Сорт	Контроль (здоровые)	Пораженные
Белок	Соната	40,21	39,93
	Гармония	36,90	37,38
	Даурия	39,06	39,46
НСР <sub>05</sub>		1,93	
Лизин (LIS)	Соната	6,76	6,71
	Гармония	6,77	6,88
	Даурия	6,75	6,85
НСР <sub>05</sub>		1,50	
Фенилаланин (PHE)	Соната	4,61	4,65
	Гармония	4,60	4,62
	Даурия	4,64	4,67
НСР <sub>05</sub>		1,89	
Лейцин (LEU)	Соната	9,04	8,89
	Гармония	8,65	8,98
	Даурия	8,55	8,87
НСР <sub>05</sub>		1,71	
Изолейцин (ILEU)	Соната	5,26	6,78
	Гармония	5,45	6,72
	Даурия	5,43	5,45
НСР <sub>05</sub>		1,61	
Валин (VAL)	Соната	7,05	6,78
	Гармония	6,73	6,72
	Даурия	6,80	7,16
НСР <sub>05</sub>		1,49	
Треонин (TRE)	Соната	3,27	3,17
	Гармония	3,14	3,27
	Даурия	2,53	3,24
НСР <sub>05</sub>		1,51	
Метионин+цистеин (MET+CYST)	Соната	1,14	1,02
	Гармония	1,12	1,10
	Даурия	1,22	1,20
НСР <sub>05</sub>		1,21	

Таблица 51 – Содержание жира и жирных кислот в семенах сои (здоровые и пораженные пероноспорозом), %, среднее за 2010-2011 гг.

Показатель	Сорт	Контроль (здоровые)	Пораженные
Жир	Соната	18,26	17,21
	Гармония	18,48	16,98
	Даурия	17,97	16,63
НСР <sub>05</sub>		1,21	
Пальмитиновая (C16:0)	Соната	9,32	9,34
	Гармония	9,25	9,27
	Даурия	9,31	9,40
НСР <sub>05</sub>		0,83	
Стеариновая (C18:0)	Соната	3,77	3,86
	Гармония	3,72	3,81
	Даурия	3,76	3,84
НСР <sub>05</sub>		0,81	
Олеиновая (C18:1)	Соната	16,11	13,07
	Гармония	15,5	14,76
	Даурия	16,76	14,61
НСР <sub>05</sub>		1,03	
Линолевая (C18:2)	Соната	52,66	52,01
	Гармония	52,10	51,77
	Даурия	52,34	51,96
НСР <sub>05</sub>		0,89	
Линоленовая (C18:3)	Соната	9,45	10,34
	Гармония	6,69	9,92
	Даурия	9,63	11,21
НСР <sub>05</sub>		1,17	

### 5.3.2 Изменение энзиматической активности в семенах и проростках сои при поражении фитопатогенами

Результаты исследования показали, что удельная активность ферментов различна у здоровых (контроль) и пораженных болезнями семян изучаемых сортов сои. В семенах сои, пораженных грибной и бактериальной инфекциями, удельная активность пероксидазы ниже, чем в здоровых (табл. 52, прил. Н, табл. Н.1). Согласно литературным данным (Рубин Б.А., Арциховская Е.В., Аксенова В.А., 1975; Андреева В.А., Воронова В.А., Угарова Н.Н., 1979), снижение активности пероксидазы связано с

изменением уровня окислительно-восстановительных процессов инфицированных семян, инфекция вызывает снижение метаболической активности и интенсивности дыхания.

Таблица 52 – Удельная активность пероксидазы в семенах (ед/мг белка) и проростках (ед/мг белка  $\times 10^{-2}$ ) сои

Сорт	Контроль (здоровые)	Болезни сои			
		пероноспороз	пурпурный церкоспороз	фузариоз	бактериоз
		$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
Семена					
Соната	105 $\pm$ 13	96 $\pm$ 14	75 $\pm$ 2	46 $\pm$ 1	87 $\pm$ 15
Гармония	114 $\pm$ 21	107 $\pm$ 21	61 $\pm$ 2	29 $\pm$ 2	95 $\pm$ 11
Даурия	127 $\pm$ 4	115 $\pm$ 29	89 $\pm$ 4	27 $\pm$ 1	106 $\pm$ 11
Проростки					
Соната	34 $\pm$ 7	44 $\pm$ 3	33 $\pm$ 2	-	29 $\pm$ 9
Гармония	18 $\pm$ 2	21 $\pm$ 3	18 $\pm$ 1	-	14 $\pm$ 2
Даурия	12 $\pm$ 2	8 $\pm$ 0,5	7 $\pm$ 1	-	6 $\pm$ 1

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

Следует отметить, что активность пероксидазы в семенах всех сортов, пораженных пероноспорозом, снижается незначительно. В наибольшей степени активность пероксидазы снижается в семенах, пораженных фузариозом (в 2,3-4,7 раза). Так как пероксидаза может служить критерием оценки посевных качеств семян, низкая активность фермента свидетельствует о снижении жизнеспособности и всхожести семян (Рогожин В.В., 2004).

В отличие от пероксидазы, активность каталазы в семенах сои увеличивается, в большей степени у сорта Соната, пораженных пероноспорозом, фузариозом и пурпурным церкоспорозом (табл. 53, прил. Н, табл. Н.2).



Таблица 53 – Удельная активность каталазы в семенах (ед/мг белка  $\times 10^{-4}$ ) и проростках (ед/мг белка  $\times 10^{-3}$ ) сои

Сорт	Контроль	Болезни сои			
		пероноспороз	пурпурный церкоспороз	фузариоз	бактериоз
		$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
Семена					
Соната	54 $\pm$ 2	89 $\pm$ 3	127 $\pm$ 13	130 $\pm$ 34	125 $\pm$ 6
Гармония	62 $\pm$ 2	110 $\pm$ 15	70 $\pm$ 10	110 $\pm$ 12	95 $\pm$ 8
Даурия	49 $\pm$ 1	90 $\pm$ 8	69 $\pm$ 8	96 $\pm$ 19	68 $\pm$ 3
Проростки					
Соната	84 $\pm$ 13	119 $\pm$ 43	78 $\pm$ 30	-	76 $\pm$ 28
Гармония	75 $\pm$ 19	85 $\pm$ 20	68 $\pm$ 17	-	57 $\pm$ 10
Даурия	80 $\pm$ 16	90 $\pm$ 18	75 $\pm$ 14	-	69 $\pm$ 12

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

Инфицирование семян сои сопровождается уменьшением некоторых множественных молекулярных форм пероксидазы или изменением их подвижности. В здоровых семенах сортов Соната и Гармония обнаружено 5 форм, у сорта Даурия – 6 форм пероксидазы (рис. 53А).

Существенные сдвиги в количестве молекулярных форм отмечаются при поражении семян бактериозом и фузариозом. В белках, выделенных из семян, пораженных фузариозом, выявлено наименьшее количество форм с пероксидазной активностью, происходит это за счет ингибирования синтеза молекулярных форм с низкой и средней электрофоретической подвижностью. В семенах, пораженных пероноспорозом, количество форм не изменяется, но увеличивается их подвижность, особенно у сорта Даурия.

Несмотря на увеличение активности каталазы в семенах, пораженных грибной инфекцией, количество множественных молекулярных форм остается на уровне контроля или сокращается, и только при бактериальном заражении отмечено появление дополнительных форм с Rf 0,07 и 0,09 у сортов Соната и Гармония соответственно (рис. 53Б).