

УДК 581.19; 581.1.032

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИНДЕКСЫ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ СОИ

Т. Ли¹, С. Дидоренко², У. Оразбаева¹, З. Спанкулова¹, А. Ташкенова¹, З. Биримжанова³

¹Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан

²Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства,
пос. Алмалыбак, Казахстан

³Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

Соя – наиболее важная зернобобовая культура во всем мире – является важным источником белка, масла, макро- и микроэлементов. Несмотря на повышение мирового спроса на культурную сою, текущие потери в производстве сои составляют более 1/5 урожая по всему миру. Большая часть этих потерь относится к абиотическим факторам, ответственным за снижение до 70% урожайности сои по сравнению с максимальной. В связи с этим изучение засухоустойчивости и продуктивности важнейших сельскохозяйственных культур, таких как соя, является приоритетным для Казахстана на сегодняшний день.

Проведенное нами ранее изучение антиоксидантных ферментов показало, что генотипы пшеницы, проявляющие более высокую ферментативную активность в условиях стресса, оказывались более устойчивыми к стрессу засухи.

Разработка метода ранней диагностики засухоустойчивости зернобобовых культур, основанного на скрининге физиолого-биохимических индексов устойчивости к стрессу, имеет важное значение для ускоренной селекции засухоустойчивых линий сои.

Были изучены сортообразцы культурной сои *Glycine max L.* из мировой коллекции, по предварительным данным обладающие признаками засухоустойчивости: сорта Устя (Украина), K589109 (Россия), K583583 HMAS 84 (США), и относящиеся к ультраскороспелой группе с периодом вегетации 85-95 дней. В качестве стандарта был использован сорт отечественной селекции – скороспелый Алматы.

В настоящей работе были использованы методы – определение относительного содержания воды (RWC), определение содержания пролина, детекция изменений в активности ферментов-антиоксидантов пероксидазы (POD) и супероксиддисмутазы (SOD), фенологические наблюдения и анализ структуры урожая контрастных сортов сои по основным элементам.

Исследовано функционирование антиоксидантных ферментных комплексов, защищающих растения на уровне клетки, позволяющее раскрыть потенциальные адаптационные механизмы стрессустойчивости растений.

Изучение коррелятивной связи между физиолого-биохимическими индексами засухоустойчивости и основными элементами продуктивности позволит нам разработать адекватные индексы засухоустойчивости для скрининга стратегически важной сельскохозяйственной культуры сои на ранних этапах онтогенеза.

Ключевые слова: биохимические индексы засухоустойчивости, ферменты-антиоксиданты, коррелятивная связь.

ВВЕДЕНИЕ

Поиск генетических ресурсов растений, комплексно защищенных от абиотических и биотических стрессов, приобретает актуальное значение. В связи с этим изучение засухоустойчивости и продуктивности важнейших сельскохозяйственных культур, таких как соя, является приоритетным для Казахстана на сегодняшний день.

Изменения в ростовых процессах, физиологических функциях и метаболизме при стрессах связаны с изменениями в экспрессии генов. Ответ на действие стрессора происходит, если растение «распознает» стрессор на клеточном уровне. Распознавание стрессора, т.е. рецепция сигнала, приводит к активации пути передачи сигнала. Последний поступает в геном, индуцируя или подавляя синтез тех или иных белков. Связанные с экспрессией генов ответные реакции клеток на действие стрессора интегрируются в ответ целого растения, выражающийся в наиболее общем случае в ингибировании роста и развития растения и одновременно в повышении его устойчивости к действию стрессора. В ответ на действие стрессора экспрессия некоторых генов усиливается, тогда как экспрессия других генов подавляется.

В условиях абиотических стрессов физиолого-биохимический ответ растения может быть протестирован по следующим параметрам:

- относительное содержание воды (*RWC*);
- содержание пролина;
- энзиматическая активность ферментов-антиоксидантов супероксиддисмутазы (*SOD*) ипероксидазы (*POD*).

Изучение коррелятивной связи между физиолого-биохимическими признаками засухоустойчивости и продуктивностью необходимо для разработки адекватных индексов засухоустойчивости.

Соя – наиболее важная зернобобовая культура во всем мире, является важным источником белков, масла, макро- и микроэлементов. Несмотря на повышение мирового спроса на культурную сою как источника растительного белка и масла, текущие потери в производстве сои составляют более 1/5 урожая по всему миру. Большая часть этих потерь относится к абиотическим факторам, ответственным за снижение на 70% урожайности сои по сравнению с максимальной.

Пероксидаза – гемсодержащий гликопротеид, который в разных изоформах присутствует практически во всех клеточных компартментах, включая и клеточную стенку. Пероксидазы способны восстанавливать перекись до воды, окисляя различные соединения. Аскорбатпероксидаза и глутатионпероксидаза используют аскорбат и восстановленный глутатион для удаления перекиси в реакции:



Супероксиддисмутаза вместе с другими антиоксидантными ферментами защищает организм от постоянно образующихся высокотоксичных кислородных радикалов. Супероксиддисмутаза катализирует дисмутацию супероксида в кислород и пероксид водорода. Таким образом, она играет важнейшую роль в антиоксидантной защите практически всех клеток, так или иначе находящихся в контакте с кислородом.

Таким образом, изучение ключевых ферментов перекисного окисления –растворимой пероксидазы и супероксиддисмутазы – позволит нам раскрыть потенциальные адаптационные механизмы стрессустойчивости растений.

В связи с этим целью настоящего исследования является разработка физиолого-биохимических индексов засухоустойчивости для скрининга стратегически важной сельскохозяйственной культуры сои на ранних этапах онтогенеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сортообразцы культурной сои *Glycine max L.* из мировой коллекции, по предварительным данным, обладающие признаками засухоустойчивости: сорта Устя (Украина), K589109 (Россия), K583583 HMAS84 (США), относятся к ультраскороспелой группе с периодом вегетации 85-95 дней. В качестве стандарта использован сорт отечественной селекции – скороспелый Алматы.

Подготовка исходного растительного материала: растения выращивали на приусадебном участке ИББР, теплицы и полях КазНИИЗиР, пос. Алмалыбак. Подобраны оптимальные условия температурного, светового режимов, состава почвы, условий влагообеспечения и удобрений: оптимальная интенсивность света 60-70 10³лк, температура 21°C, световой период 17 часов с использованием специальных ламп накаливания. Фенологические наблюдения, уход за растениями и уборку урожая проводили на приусадебном участке ИББР, теплицы и на полях КазНИИЗиР, пос. Алмалыбак.

Фенологические наблюдения по сое велись по всем вариантам опытов. Наступление фаз устанавливалось путем подсчета растений или глазомерно на посевах. Наблюдения проводились в первой половине дня.

Развитие растения в течение периода вегетации разделяется на две фазы - вегетационную и репродуктивную, которые в свою очередь могут быть поделены на несколько подфазных периодов. Ранее рассматривали и использовали множество таких классификаций, однако сегодня принята классификация и буквенно-цифровое обозначение, которую предложили Fehret. al. (1971) [1].

Недостаток влаги в фазы цветения, бобообразования и налива семян резко снижает продуктивность сои. С фазы цветения потребление влаги очень резко возрастает, что связано с интенсивным развитием зелёной массы и увеличением испаряющей поверхности. Следует отметить ещё одну особенность сои: она отрицательно реагирует на воздушную засуху, особенно в период цветения и бобообразования. При очень низкой влажности в этот период не образуются новые и сбрасываются имеющиеся цветки и бобы. По этой причине для возделывания сои в районах с жарким и сухим климатом необходимо орошение.

Симулирование первого стресса по недостатку влаги для сои было проведено перед периодом R1 (начало цветения), второй стресс по недостатку влаги был организован перед периодом R5 (начало налива бобов).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Методы, приведенные ниже, обоснованы, так как являются наиболее распространенными и эффективными.

Метод определения относительного содержания воды в листьях (RWC)

Относительное содержание воды (RWC) определяли в соответствии с Schonfeld et.al. (1988) [2], где сырую массу (FW) у 20 дисков из самых молодых полностью раскрытых листьев определяли в течение 2 часов после взятия пробы.

Тургорную массу (TW) определяют после инкубации дисков в дистиллированной воде в течение 16-18 часов. После инкубации диски быстро и тщательно высушивают с помощью бумаги для определения TW. Сухую массу (DW) определяют после высушивания дисков в сухо-воздушном шкафу при 70°C в течение 72 часов.

RWC рассчитывали по формуле:

$$RWC = [(FW - DW)/(TW - DW)] \times 100 \quad (2)$$

Данный метод позволяет оценить реальное содержание воды в отобранных образцах листьев относительно максимального содержания воды при полном тургоре. Это мера дефицита воды в листьях. Нормальные значения RWC варьируют от 98 до 40% в увядающих и сильно высушенных листьях. В большинстве злаковых культур RWC при увядании листьев находится в пределах 60-70%.

Количественный метод определения пролина

Содержание пролина в образцах определяли по методу Bates et al. (1973) [3].

Реактивы: вода дистиллированная, ледяная уксусная кислота (ЛУК), нингидриновая смесь (1.25 г нингидрина на смеси кислот 20 мл 6М фосфорной кислоты и 30 мл ЛУК, сварить на водяной бане).

Оборудование: пальчиковые пробирки, цилиндры, стаканы термостойкие, пипетки, водяная баня, кюветы для измерения, секундомер, КФК-2МП.

Ход работы: Навеску, состоящую из 5 проростков, заливают 5 мл кипящей дистиллированной воды. Пробирки помещают на водяную баню, доводят до кипения, кипятят 30 мин. и охлаждают. Пробирки, содержащие контрольную пробу 1 мл дистиллированной воды, 1 мл нингидриновой смеси и 1 мл ледяной уксусной кислоты помещают на водяную баню. В опытах вместо 1 мл дистиллированной воды берут по 1 мл растительного экстракта, 1 мл нингидриновой смеси и 1 мл ледяной уксусной кислоты. Все пробирки кипятят в течение 1 часа, а затем охлаждают. Оптическую плотность растворов измеряют на спектрофотометре при 522 нм.

Концентрацию пролина определяют с помощью предварительно полученной калибровочной кривой. Затем содержание пролина в пробах рассчитывают по формуле:

$$A = n V/P, \quad (3)$$

где a – содержание пролина;
 n – значение по калибровочной кривой;
 V – объем разведения, мл;
 P – вес навески, г.

Метод определения активности пероксидазы (POD)

Для определения активности пероксидазы (ПОД) клетки гомогенизировали в среде, содержащей 0,05 М ацетатный буфер, pH 5,6. Оптимальное соотношение объема среды гомогенизации и навески растительных клеток составляло 10:1. Гомогенат центрифугировали 15 минут при 14,000 об/мин. Осадок отбрасывали, а надосадочную жидкость («грубый экстракт») использовали для определения активности ПОД. Реакционная смесь содержала 0,05 М ацетатный буфер, 6,4 мМ раствор *o*-дианизидина, 15 мМ раствор перекиси водорода и экстракт ПОД (10-50 мг белка/мл). После быстрого перемешивания реагентов следили за изменением оптической плотности. Активность ПОД отмечали по начальной скорости окисления *o*-дианизидина при комнатной температуре при 460 нм на спектрофотометре. Скорость реакции определяли по тангенсу угла наклона начальных участков кинетических прямых изменения оптической плотности во времени, согласно методу Лебедева и др. (1977) [4].

Метод определения активности супероксиддисмутазы (SOD) по Beauchamp et al. (1971) [5].

Активность СОД определяли в листьях контрольных и опытных растений. Для этого 0,5 г материала растирали в ступке с 4,5 мл охлажденного 30 мМК/Na фосфатного буфера (pH 7,4), содержащего 0,1 мМ EDTA и 2% поливинилпирролидона (ПВП-мол. масса 25 000). Гомогенат фильтровали через капроновую ткань и центрифугировали при 11 000 г в течение 20 мин. Супернатант, разбавленный в 20 раз, использовали в качестве ферментативного экстракта для определения активности СОД.

Активность СОД определяли по фотовосстановлению красителя нитро-голубого тетразолия (NBT) в присутствии рибофлавина и метионина, генерирующих супероксидные анион-радикалы (O_2^-). NBT восстанавливается до синего формаза с максимумом поглощения при 560 нм. Реакционная смесь (3 мл) содержала 1,3 мкМ рибофлавин, 13 мМ метионин 63 мкМ в 50 мМ/Na фосфатный буфер с 0,1 мМ EDTA, pH 7,4 и 0,1 мл ферментативного экстракта. Образцы освещали в течение 6 мин. Измерения проводили на спектрофотометре. За единицу активности СОД принимали объем ферментативного экстракта, который вызывал 50% ингибирование фотовосстановленного NBT.

Анализ элементов структуры урожая сои

Анализ структуры урожая сортообразцов сои проводили по следующим элементам: высота растения, высота прикрепления нижнего боба, количество боковых ветвей, количество продуктивных узлов, количество бобов с растения, масса семян с растения, масса 1000 семян [6].

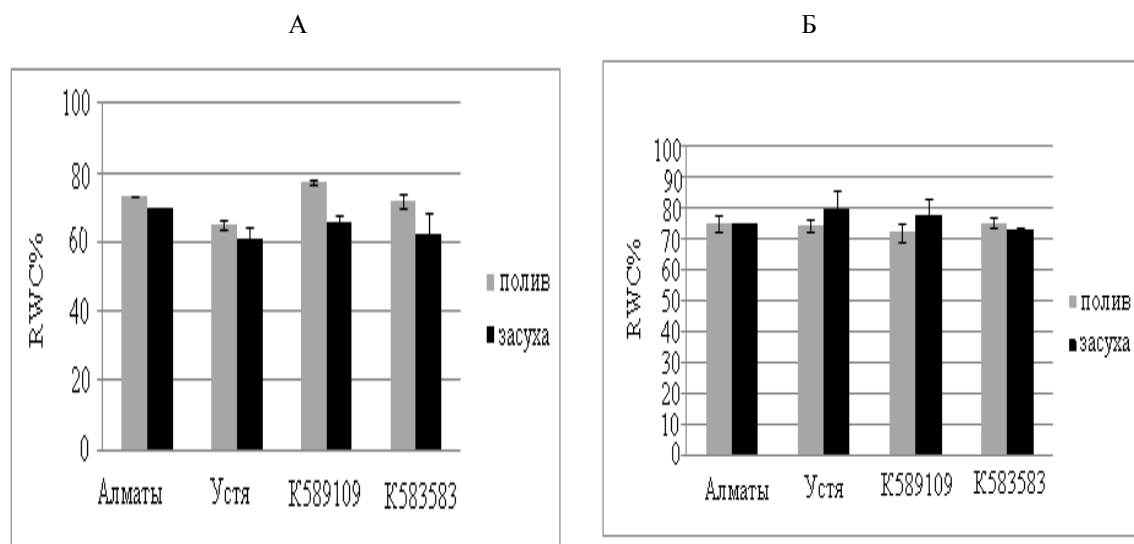
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное нами ранее изучение антиоксидантных ферментов показало, что генотипы пшеницы, проявляющие более высокую ферментативную активность в условиях стресса, оказывались более устойчивыми к стрессу засухи [7, 8]. Выявлено, что полученные результаты хорошо согласуются с имеющимися литературными данными [9, 10]. Разработка метода ранней диагностики засухоустойчивости зерно-бобовых культур, основанного на скрининге физиолого-биохимических индексов устойчивости к стрессу, имеет важное значение для ускоренной селекции засухоустойчивых линий сои. Изучение функционирования антиоксидантных ферментных комплексов, защищающих растения на уровне клетки при стрессовых воздействиях окружающей среды, имеет большое стратегическое значение для практической селекции.

Определение относительного содержания воды (RWC) в листьях 2-х верхних ярусов сои

Определено относительное содержание воды (RWC) в листьях 2-х верхних ярусов у 4 сортообразцов культурной сои *GlycinemaxL.* из мировой коллекции, по предварительным данным обладающих признаками засухоустойчивости: сорта Устя, K589109, K583583, и которые относятся к ультраскороспелой группе с периодом вегетации 85-95 дней. В качестве стандарта использован сорт отечественной селекции – скороспелый Алматы.

В опытах по определению относительного содержания воды (RWC) в образцах сои в двух фазах онтогенеза, наиболее уязвимых к дефициту влаги – фазы цветения и налива бобов – обнаружено, что больший стресс от недостатка влаги испытывали сортообразцы K589109 и Устя, а меньший – Алматы и K583583 (рисунок 1).



А – в фазе цветения; Б – в фазе налива бобов

Рис. 1. Относительное содержание воды (RWC) в листьях 2-х верхних ярусов сои на поливе и при засухе

Определение содержания пролина у сои в условиях полива и моделированной засухи

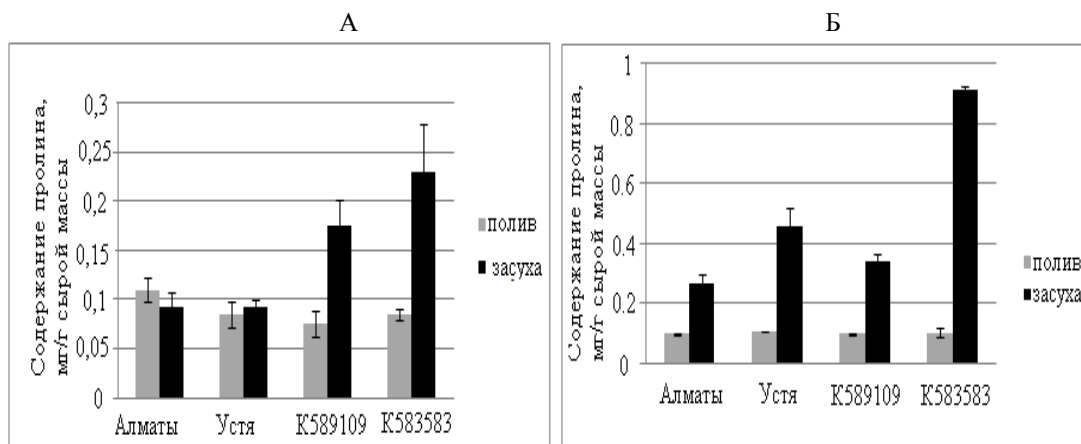
Определение содержания пролина в листьях сои было проведено в условиях полива и засухи в двух репродуктивных фазах вегетации, наиболее уязвимых к дефициту влаги – в фазе цветения R1 и в фазе

налива бобов R5.

Образцы сои (листья) были отобраны для определения содержания пролина при появлении первых признаков увядания на 10 день развития стресса засухи в фазах R1 и R5.

Биохимическое определение содержания пролина у сортообразцов сои показало: в фазе цветения содержание пролина почти не меняется в стрессированных растениях Алматы и Устя; а у сортов K589109, K583583 наблюдается повышение содержания пролина в условиях засухи в сравнении с поливом в 2 и в 2,5 раза соответственно (рисунок 2).

Биохимическое определение содержания пролина у сортообразцов сои показало: в фазе налива бобов наблюдалось повышение содержания пролина в стрессированных растениях сои сорта Алматы и K589109 – в 3 раза, Устя – в 4,5 и K583583 – в 10 раз (рисунок 2).



А – в фазе цветения; Б – в фазе налива бобов

Рис. 2. Содержание пролина в листьях 2-х верхних ярусов сои на поливе и при засухе

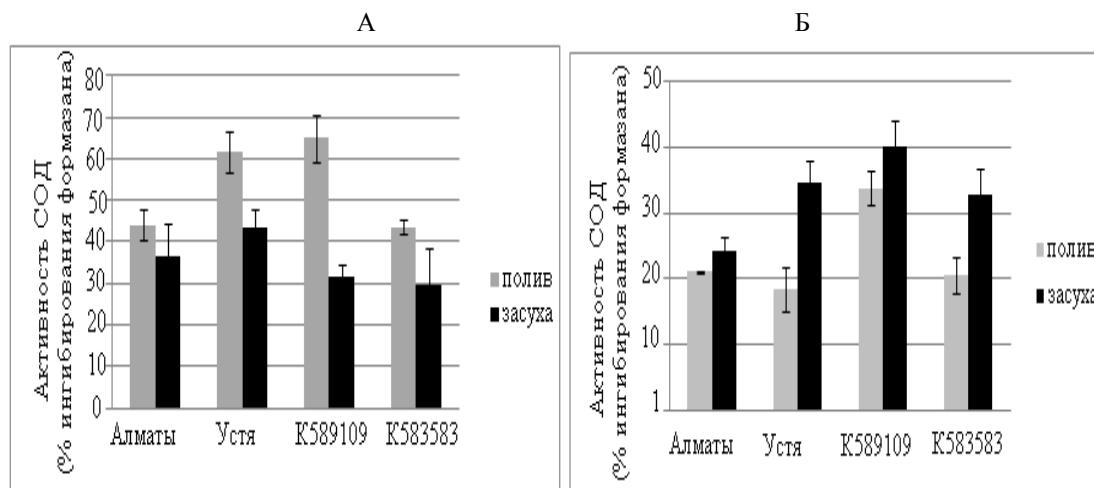
Таким образом, в опытах по определению содержания пролина в образцах сои в двух фазах онтогенеза наиболее уязвимых к дефициту влаги R1 – цветения и R5 – налива бобов обнаружено, что наибольший стресс от недостатка влаги испытывали сортообразцы Алматы (Казахстан) и Устя (Украина), а наименьший K583583 (США).

Определение ферментативной активности СОД у сои в условиях полива и моделированной засухи

Определение ферментативной активности СОД в листьях сои было проведено в условиях полива и засухи в двух репродуктивных фазах вегетации, наиболее уязвимых к дефициту влаги – в фазе цветения R1 и налива бобов R5.

Образцы сои (листья) были отобраны для определения ферментативной активности СОД при появлении первых признаков увядания на 10 день развития стресса засухи в фазах R1 и R5.

Биохимическое определение ферментативной активности СОД у сортообразцов сои показало: в фазе цветения наблюдалось ее понижение в стрессированных растениях: Алматы – 10%, Устя – 20%, K589109 – в 2 раза, K583583 – 12% (рисунок 3); в фазе налива бобов наблюдалось повышение активности СОД: Алматы – 3%, Устя – в 2 раза, K589109 – 6%, K583583 – 12% (рисунок 3).



А – в фазе цветения; Б – в фазе налива бобов

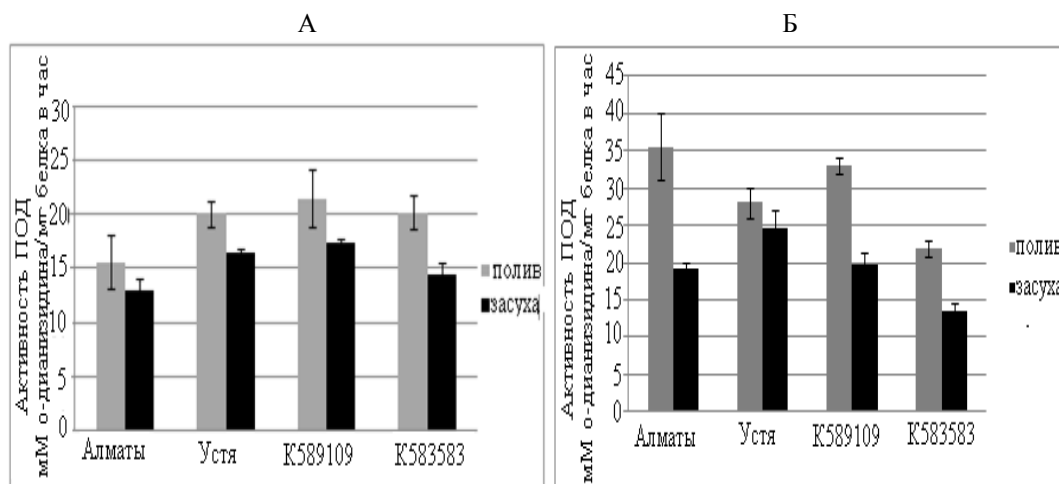
Рис. 3. Активность СОД в листьях 2-х верхних ярусов сои на поливе и при засухе

Определение ферментативной активности ПОД у сои в условиях полива и моделированной засухи

Определение ферментативной активности ПОД в листьях сои было проведено в условиях полива и засухи в двух репродуктивных фазах вегетации, наиболее уязвимых к дефициту влаги – в фазе цветения R1 и налива бобов R5.

Образцы сои (листья) были отобраны для определения ферментативной активности ПОД при появлении первых признаков увядания на 10 день развития стресса засухи в фазах R1 и R5.

Биохимическое определение ферментативной активности ПОД у сортообразцов сои показало: в фазе цветения и в фазе налива бобов наблюдалось ее понижение в стрессированных растениях в большей степени для Алматы и К589109 – в 2 раза (рисунок 4).



А – в фазе цветения; Б – в фазе налива бобов

Рис. 4. Активность ПОД в листьях 2-х верхних ярусов сои на поливе и при засухе

Анализ элементов структуры урожая сои

Структуру урожая сои проводили по основным элементам: высота растения, высота прикрепления нижнего боба, количество боковых ветвей, количество продуктивных узлов, количество бобов с растения, масса семян с растения, масса 1000 семян.

Высота растения, см – длина стебля от поверхности почвы до верхушки.

Строение куста: ш - широкий, к - канделяброобразный, п - полусжатый, с – сжатый; о – ограниченное ветвление, в – повышенная ветвистость.

Количество продуктивных узлов – число узлов, несущих при созревании бобы.

Полегание, балл: 1 - отсутствует, 2 – в верхней части стебля, 3 – от середины стебля, 4 – от основания.

Доля бобов, расположенных ниже 15 см от поверхности почвы, %. Эта характеристика позволяет более объективно оценить возможные потери урожая при комбайнировании, нежели высота прикрепления нижнего боба.

Растрескивание бобов, балл - потери урожая семян при перестое на корню в течение 5 суток при дневных температурах около 25°C: 1 - 0%, 2 - <10%; 3 - 10-25%; 4 - 25-50%; 5 - >50%. У некоторых позднеспелых образцов этот показатель не учитывался.

Масса 1000 семян, г - измерялась при 13% влажности.

Структурный анализ образцов сои, выращенных на полевом стационаре, выявил отличия в элементах продуктивности. Это касается в первую очередь высоты растения и длины междоузлий. У растений, испытывающих водный стресс, уменьшается высота за счет уменьшения длины междоузлий. Что касается засухоустойчивого сорта Алматы, то несмотря на то, что высота растения уменьшилась примерно в 1,5 раза и составила в среднем 41,5 см, увеличилось количество боковых ветвей в среднем до 3,9 шт., за счет чего сформировалось больше бобов на растении, и масса семян с растения была выше, чем у этого же сорта, выращенного в условиях трехкратного полива (рисунок 5, таблица 1). Аналогичную картину можно увидеть по сорту Устя.



а – достаточное влагообеспечение, б – стресс в репродуктивный период

Рис. 5. Сорт сои Алматы, выращенный в условиях полевого стационара, стадия полного созревания (5.09.2012)

У образцов, испытывающих водный стресс, увеличилось количество боковых ветвей, хотя количество бобов с растения было меньшим, чем при полноценном поливе, и вследствие этого незначительно снизилась урожайность. Сортообразцы К583583 и К589109 оказались более восприимчивы к недостатку влаги в репродуктивный период, что в значительной степени отразилось на всех элементах продуктивности. Так, снизилось количество боковых ветвей, количество бобов и семян с растения.

Таким образом, при изучении элементов продуктивности у коллекционных образцов сои при достаточном водообеспечении и стрессе засухи в репродуктивные периоды было выявлено, что у засухоустойчивого сорта – Алматы продуктивность не снижается за счет увеличения количества боковых ветвей и количества бобов с растения. Сорт сои Устя оказался среднеустойчивым, его продуктивность после стресса упала незначительно. Коллекционные образцы К583583 и К589109 оказались восприимчивы к недостатку влаги в репродуктивный период, что сказалось на значительном снижении продуктивности после испытания стрессом (таблица 1).

Таблица 1. Данные структурного анализа сои, выращенной на полевом стационаре КазНИИЗиР

Форма	Число растений	Высота, см	Высота прикрепления нижн. боба, см	Кол-во боковых ветвей, шт.	Кол-во продуктивных узлов, шт.	Кол-во бобов с растения, шт.	Масса семян с растения	Масса 1000 семян
На поливе								
К583583	18	52,8±5,24	5,78±0,33	2,15±0,53	17,7±3,52	38,55±6,99	12,89±1,73	151,1±1,99
К589109	8	31,1±2,07	3,15±1,2	1,20±0,55	11,37±4,8	35,18±13,0	10,37±5,42	130,4±9,90
Устя	12	41,4±7,39	4,2±0,23	1,22±0,57	11,5±5,29	39,9±16,5	13,54±3,54	131,93±3,18
Алматы	15	59,5±5,17	13,1±2,54	1,1±0,78	13,2±2,76	34,1±3,23	7,9±3,11	152,3±9,67
Дефицит влаги в период R1 - цветения, R5 - налива бобов								
К583583	18	47,13±8,08	6,7±0,92	1,36±0,04	11,07±4,71	18,73±8,29	5,69±2,46	160,1±11,96
К589109	10	40,6±3,46	5,15±1,9	1,27±0,33	14,5±1,96	40,9±4,5	7,96±2,85	144,1±14,00
Устя	10	40,4±5,96	5,05±2,34	1,27±0,80	10,09±4,46	23,23±15,4	11,57±0,33	137,4±14,71
Алматы	15	41,5±3,04	6,6±1,72	3,9±1,91	23,8±4,12	48,7±8,13	13,8±3,11	149,3±10,15

--	--	--	--	--	--	--	--	--

Структурный анализ сортообразцов сои, выращенных на экспериментальном участке ИББР выявил отличия в элементах продуктивности. Это касается в первую очередь высоты растения – растения сорта Алматы были значительно выше растений остальных линий, по основным признакам продуктивности «количество бобов с растения» и «массе семян с растения» сорт Алматы превосходил другие сорта, т.е. из-за того, что сформировалось больше бобов на растении «масса семян с растения» была выше у этого же сорта (таблица 2).

Таблица 2. Данные структурного анализа сои, выращенной на участке ИББР

Форма	Число растений	Высота, см	Высота прикрепления нижн. боба, см	Кол-во боковых ветвей, шт.	Кол-во продуктивных узлов, шт.	Кол-во бобов с растения, шт.	Масса семян с растения, г	Масса 1000 семян, г
K583583	18	43,12±3,15	7,71±0,69	1,32±0,21	8,43±0,35	11,95±0,44	18,26±5,21	195,5±3,59
K589109	8	42,9±0,23	5,63±0,54	1,34±0,39	8,14±0,54	11,43±2,04	17,75±7,39	186,1±7,51
Устя	45	50,3±4,81	5,61±0,78	1,38±0,82	8,71±1,53	12,5±2,84	16,75±4,22	170±7,62
Алматы	45	57,35±4,97	5,7±0,86	1±0,84	10,31±1,04	14,53±3,02	20,25±6,14	172±13,33

Анализ основных элементов структуры урожая у коллекционных образцов сои в условиях экспериментального участка ИББР показал, что по показателям продуктивности «массе семян с растения» и «массе 1000 семян» сорта K583583 и Алматы оказались в лидирующих позициях. И в условиях полевого стационара КазНИИЗиР при достаточном влагообеспечении и стрессе засухи в репродуктивный период по показателю продуктивности «массе 1000 зерен» сорта сои K583583 и Алматы оказались лучшими. Таким образом, по результатам изучения физиолого-биохимических признаков засухоустойчивости коллекционных сортообразцов сои обнаружена хорошая коррелятивная связь с основными элементами продуктивности - «массе зерна с 1 растения» и «массе 1000 семян» у сортов K583583 HMAS 84 (США) и Алматы.

ВЫВОДЫ

Биохимическое определение ферментативной активности *ПОД* у сортообразцов сои показало: в фазе цветения и в фазе налива бобов наблюдалось ее понижение в стрессированных растениях, в большей степени для Алматы и K589109 – в 2 раза.

Биохимическое определение ферментативной активности *СОД* у сортообразцов сои показало: в фазе цветения наблюдалось ее понижение, а в фазе налива бобов – повышение активности в стрессированных растениях.

По данным структурного анализа можно сделать заключение, что больший стресс от недостатка влаги испытывали сортообразцы K589109 (Россия), K583583 HMAS 84 (США), а наименьший Устя (Украина).

Изучение коррелятивной связи между физиолого-биохимическими индексами засухоустойчивости и основными элементами продуктивности структуры урожая – «массе зерна с одного растения» и «массе 1000 зерен» – позволит нам разработать адекватные индексы засухоустойчивости для скрининга стратегически важной сельскохозяйственной культуры сои на ранних этапах онтогенеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fehr W.R., Caviness C.E., Burmood O.T. and Pennington J.S. Stage of development description for soybeans *Glycine max(L.)* // *Merril. Crop Sci.* – Vol.11. – P. 929-931.
2. Schonfeld M.A., Johnson B.F., Mornhiweg D.W. Water relations in winter wheat as drought resistance indicator // *Crop Sci.* – 1988. - Vol. 28. - P. 526-531.
3. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies // *Plant Soil.* - 1973. - Vol. 39. - P. 205–207.
4. Лебедева О.В., Угарова Н.Н., Березин И.В. Кинетическое изучение реакции окисления о-дианизидина H_2O_2 в присутствии пероксидазы хрена / *Биохимия.* - 1977. - Т.42.- С. 1372-1379.

5. Beauchamp C., Fridovich J. *Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels* // *Anal. Biochem.* - 1971. - Vol. 44. - P. 276-287.
6. Корсаков Н.И., Макашева Р.Х., Адамова О.П. *Методика изучения коллекции зернобобовых культур.* – Л.: ВИР, 1968. – 175 с.
7. T. Lee, H.J. Bohnert, V.A. Poroyko. *Transcript and Metabolic Changes in Carbon and Nitrogen Allocation Pathways in Wheat under Drought.* // *Proceedings of Conference. Eucarpia.Lleida (Spain).* - 2006. - P. 221-225.
8. T. Lee, H.J. Bohnert, V.A. Poroyko. *Changes in activity of key enzymes of nitrogen and carbon assimilation under drought* // *ASPB meeting.Chicago. USA.* – 2007.
9. Shao H.B., Chu L.Y., Zhao C.X., Guo Q.J., Liu X.A., Ribaut J.M. *Plant gene regulatory network system under abiotic stress* // *Review article. Acata Biologica Szegediensis.* - 2006. Vol.50, №1-2. – P. 1-9.
10. M. Almeselmani, P.S. Deshmukh, R.K. Sairam, S.R. Kushwaha and T.P. Singh. *Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress* // *Plant Sci.* – 2006. – Vol.171, №3. – P. 382-388.
11. Suzuki N., Mittler R. *Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction* // *Physiol. Plant.* – 2006. – Vol. 126. – P. 45-51.
12. Карпец Ю.В. *О возможных механизмах индуцирования теплоустойчивости проростков пшеницы мягкой и сосны обыкновенной кратковременным действием высокой температуры* // *Вісн. Харків. націон.аграрн. ун-ту. Серія «Біологія».* – 2007. – №3 (12). – С. 63-70.
13. Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е. *Ответ растений на гипертермию. Молекулярно-клеточные аспекты* // *Вісн. Харків. націон.аграрн. ун-ту. Серія «Біологія».* - 2009. - №1(16). - С. 19-38.
14. Bayoumi T., Eid M., Metwali E. *Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes* // *Afr. J. Biotechnology.* - 2008. - Vol.7, №14. - P. 2341-2352.
15. Wang W., Vinocur B., Altman A. *Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance* // *Planta.* - 2003. - Vol.218. – P.1-14.
16. Blum A., *Towards standard assays of drought resistance in crop plants. Workshop on molecular approaches for the genetic improvement of cereals for stable production in water-limited environments. CYMMYT, Mexico.* - 2008. – P. 29-35.
17. Shao H.B., Chu L.Y., Wu G., Zhang J.H., Lu Z.H., Hu Y.C. *Changes of some anti-oxidative physiological indices under soil water deficits among 10 wheat genotypes at tillering stage* // *Colloids Surf B Biointerfaces.* – 2007. - №54(2). – P.1 43-149.
18. Zhang M.J., Tan F.J., Zhang Q.J., Yang Y.J. *Physiological indices and selection of methods on rapid identification for sweet potato drought resistance* // *Agricultural sciences in China.* – 2005. - №4 (11). - P. 826-832.

СОЯНЫҢ ҚҰРҒАҚШЫЛЫҚҚА ТӨЗІМДІЛІГІНІҢ БИОХИМИЯЛЫҚ ИНДЕКСТЕРІ

Т. Ли¹, С. Дидоренко², У. Оразбаева¹, З. Спанкұлова¹, А. Ташкенова¹, З. Бірімжанова³

¹РМК Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Алматы қаласы, Қазақстан

²Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты, Алматыбақ кенті, Қазақстан

³Әл Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Алматы қаласы, Қазақстан

Соя – белок, макро- және микроэлементтердің маңызды көзі болып табылатын әлемдегі ең маңызды бұршақ дәнді дақыл. Дақылдық сояға әлемдік сұраныстың жоғарылауына қарамастан әлем бойынша сояны өндірудің ағымдағы шығыны өнімнің 1/5 бөлігінен аса құрайды. Бұл шығындардың көп бөлігі ең жоғары деңгейдегісімен салыстыру бойынша өнімділіктің 70%-ға дейін төмендеуіне әкелетін абиотикалық факторларға жатады. Осыған байланысты соя сияқты маңызды ауылшаруашылық дақылдардың құрғақшылыққа төзімділігі және өнімділігін зерттеу қазіргі күнде Қазақстан үшін басымдықты болып табылады.

Бұрын жүргізілген антиоксидантты ферменттерді зерттеу жұмыстарымыз - күйзеліс жағдайында жоғары ферментативті белсенділік байқатқан бидай генотиптерінің құрғақшылық күйзелісіне төзімді екенін көрсетті.

Бұршақ дәнді дақылдардың күйзеліске төзімді физиологиялық-биохимиялық көрсеткіштерінің скринингіне негізделген құрғақшылыққа төзімділіктің ерте диагностикасы әдісін жетілдіру сояның құрғақшылыққа төзімді сортармақтарын алу селекциясын жеделдетуде маңызды роль атқарады.

Алдын ала берілген мәліметтер бойынша құрғақшылыққа төзімді көрсеткіштерге ие әлемдік коллекциядан алынған *Glycine max L.* дақылды соясының сортүлгілері зерттелінді, олар: Устя (Украина), K589109 (Ресей), K583583 HMAS 84 (АҚШ). Олар вегетациялық кезеңі 85-95 күн болатын ультратез пісетін топқа жатады. Стандарт ретінде отандық селецияның тез пісетін Алматы сорты қолданылды.

Бұл жұмыста қолданылған әдістер – судың салыстырмалы құрамын анықтау (RWC), пролин мөлшерін анықтау, антиоксидантты ферменттер пероксидаза (POD) және супероксиддисмутазаның (SOD) белсенділігіндегі өзгеріс детекциясы, сояның қарама-қарсы сорттарын негізгі элементтер бойынша фенологиялық бақылау және өнім құрылымының анализі.

Өсімдікті жасушалалық деңгейде қорғайтын антиоксидантты ферменттер кешенінің қызметі зерттелінді. Ол өсімдіктің күйзеліске төзімділігінің бейімделу тетіктерін ашуға мүмкіндік береді.

Құрғақшылыққа төзімді физиологиялық-биохимиялық көрсеткіштер мен өнімділіктің негізгі элементтері арасындағы коррелятивті байланыстарды зерттеу - стратегиялық маңызды ауылшаруашылық соя дақылын онтогенездің ерте кезеңінде скринингтеу үшін қажет адекватты құрғақшылыққа төзімді барабар индекстерді әзірлеуге мүмкіндік береді.

Негізгі сөздер: құрғақшылыққа төзімділіктің биохимиялық индекстері, ферменттер-антиоксиданттар, корреляциялық байланыс.

BIOCHEMICAL INDICATORS OF SOYBEAN'S DRAUGHT-RESISTANCE

T. Li¹, S. Didorenko², U. Orazbayeva¹, Z. Spankulova¹, A. Tashkenova¹, Z. Birimzhanova³

¹Institute for Plants Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan

²Казахский Казах Research Institute of Arable Farming and Plant Production, Almaty, Kazakhstan

³Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

ABSTRACT

Soybean is the most important legumes in the world and an important source of protein, oil, macro- and micronutrients. Despite the increase in world demand for cultural soya as a source of vegetable protein and oil, the current losses in the production of soybean comprise over one fifth crop worldwide. Abiotic stress factors are responsible for most of these losses of soybean yield compared with the maximum. In this regard, the study of drought tolerance and productivity of major agricultural crops, such as soybean, is a priority for Kazakhstan today.

Our previous study of the antioxidant enzymes had revealed that the genotypes of wheat, developing a higher enzyme activity under stress, are proved to be more resistant to drought stress.

We have studied the cultivated soybean *Glycine max L.* of the world collection, according to the preliminary data having traits of drought resistance: vr.Ustyа (Ukraine), K589109 (Russia), K583583 HMAS 84 (USA) and related to early maturing group with vegetation period of 85-95 days. As the standard was used a variety of domestic breeding - Almaty.

In the present research we applied the methods - determination of relative water content (RWC), determination of proline, detection of changes in the activity of antioxidant enzymes peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD), phenological observations and analysis of the main elements of yield structure of contrasting soybean varieties.

Development of a method for early diagnosis of drought resistance in legume crops, based on the screening of physiological and biochemical indicators of stress tolerance, is essential for accelerated breeding of soybean genotypes.

Keywords: biochemical indices of drought resistance, enzymes-antioxidants, correlative links.