

ВЛИЯНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ ДЕФОЛИАЦИИ НА АКТИВНОСТЬ ИНГИБИТОРОВ ТРИПСИНА У *HEDYSARUM THEINUM* (FABACEAE)

Е.В. Жмудь, И.Н. Кубан, А.А. Ачимова, М.Б. Ямтыров, О.В. Дорогина

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101, e-mail: elenazhmu@ngs.ru

Трипсинингибирующая активность (ТИА) является одним из факторов иммунитета, обеспечивая наличие общей неспецифической системной устойчивости у покрытосеменных растений. В эксперименте при искусственной дефолиации изучена изменчивость ТИА в листьях у растений эндемичного для Сибири вида *Hedysarum theinum* Krasnob. (Fabaceae), что связано с его использованием в качестве лекарственного и кормового. Показано, что ТИА у *H. theinum* при дефолиации может служить одним из критериев адаптационных возможностей вида.

Ключевые слова: трипсинингибирующая активность, морфометрические признаки, *Hedysarum theinum*, фенологические фазы сезонного развития, природные условия, культура.

INFLUENCE OF ARTIFICIAL DEFOLIATION ON TRYPSIN INHIBITOR ACTIVITY IN *HEDYSARUM THEINUM* (FABACEAE)

E.V. Zhmud, I.N. Kuban, A.A. Achimova, M.B. Yamtyrov, O.V. Dorogina

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS,
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101, e-mail: elenazhmu@ngs.ru

Trypsin inhibitor activity (TIA) is one of the of immunity factors, that provide ensures the presence of general nonspecific systemic resistance in angiosperm plants. In the experiment with artificial defoliation, the variability of TIA in leaves of the Siberian endemic species *Hedysarum theinum* Krasnob. (Fabaceae) has been studied. This is due to its use as a medicinal and fodder. It is shown that TIA in *H. theinum* leaves in defoliation can be one of the criteria for the adaptive capabilities of the species.

Key words: trypsin inhibitor activity, morphometric features, *Hedysarum theinum*, phases of seasonal development, natural conditions, cultivation.

ВВЕДЕНИЕ

Представители семейства *Fabaceae* Lindl. (Бобовые) характеризуются высоким содержанием белка и используются для кормовых и лекарственных целей. Почти все покрытосеменные растения в наземной части вырабатывают антипитательные соединения, которые блокируют усвоение растительного белка у вредителей и патогенов. К таким соединениям относятся ингибиторы протеиназ (ИП) и, в частности, трипсина (ИТ). В организме человека и животных ИТ связываются с трипсином – ферментом, расщепляющим белок, в результате чего усвоение растительного белка у животных нарушается. Эти вещества, PR-6 proteins, относятся к одному из факторов иммунитета растений, связаны с патогенезом и названы “белками патогенеза” (pathogenesis–relation proteins) (Трифонов и др., 2007). Ингибиторы трипсина в растениях синтезируются при различных воздействиях абиотической и биотической природы и принадлежат к стресс-индуцируемым,

или стрессовым, белкам (Koiwa et al., 1997; Ryan, 2000; Kidric et al., 2014). Исследование этой группы соединений перспективно, в том числе, для управления устойчивостью растений (Jouanin et al., 1998).

Синтез ИП приводит к адаптивным изменениям в организме растений и обеспечивает повышение их системной устойчивости, что на молекулярном уровне сопряжено с процессами деградации и репарации белков (Чиркова, 2002; Dombrowski, 2003).

Особенно много ИП у бобовых растений. У многих окультуренных представителей покрытосеменных хорошо изучены локализация и структура молекул ИТ, в основном в семенах, клубнях и других запасающих органах (Мосолов, Валуева, 2008). Согласно литературным данным, в семенах бобовых культур ингибиторы протеиназ накапливаются параллельно процессу их созревания (Carasco, Xavier-Filho, 1981).

К фенотипически пластичным относятся виды, в генотипе которых заложена способность к адаптации, проявляющаяся при колебаниях условий произрастания и способствующая их выживанию (Высочина, 1999). Повышение ТИА в разные фазы сезонного развития и при стрессах, в совокупности с воздействием других факторов иммунитета, обеспечивает растениям системную неспецифическую устойчивость к воздействию биотических и абиотических факторов среды и может рассматриваться как запуск механизма преадаптации растений к возможному инфицированию или к каким-либо другим стрессовым воздействиям (Шакирова, 2001).

Согласно литературным данным, повышение трипсинингибирующей активности в надземной части является энергозатратным процессом, поэтому данный признак может отражать иммунный статус растений (Zavala et al., 2004). Сведения об изменении уровня ТИА в надземной части после механических повреждений растений крайне немногочисленны. Под действием механического стресса, вызванного, например, травоядными животными, растения синтезируют ИТ; эти вещества попадают в желудок теплокровных животных или насекомых, вызывая нарушения пищеварения. Они транспортируются к месту инфекции, что позволяет остановить разрушение белков растительных клеток (Kazan, Manners, 2008). Ингибиторы протеиназ растений не обязательно являются специфическими при воздействии атакующего ор-

ганизма, но повышение активности ИП у представителей, например, *Solidago altissima*, при повреждении, отмечено всегда (Bode et al., 2013). Через 48 ч после механической травмы в тканях листьев и стеблей томатов обнаружен ИТ (Shamei et al., 1996). В эксперименте с поранением (ожогом) листочков сложного листа (10 мм и более в диаметре) у растений томата ТИА увеличивается не только в поврежденных, но и в соседних листочках (Alarson, Malone, 1995). У проростков огурца ТИА повышалась в 2.5 раза уже через 15 мин при воздействии низких температур (Фролова, 2008).

У дикорастущих представителей семейства *Fabaceae* активность этой группы веществ при повреждениях не изучалась. Согласно полученным данным, наиболее высокие значения ТИА обнаружены в семенах сои – *Glycine max* L. (Дорогина, Жмудь, 2010). Наиболее высокой ТИА в листьях характеризовались представители рода *Hedysarum* L., в том числе редкий для Сибири *H. theinum* Krasnob. Вид имеет ресурсное значение, так как является источником биологически активных веществ (Растительные ресурсы..., 2010). Его представители были выбраны нами в качестве модельных растений для изучения ответной реакции на стрессовое воздействие (искусственную дефолиацию), что связано с использованием надземной части *H. theinum* в качестве кормового и лекарственного растения. *Hedysarum theinum* – эндемик Алтая, стержнекорневой поликарпик с удлинненными монокарпическими побегами (Красная книга..., 2017) (рис. 1).



Рис. 1. Общий вид растений *Hedysarum theinum*:

а – в природных условиях (РА, Шебалинский р-н, перевал Семинский, 2016 г.); б – в культуре (Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск, 2017 г.).

Цель работы – выполнить сравнительный анализ изменения ТИА у особей *H. theinum* в ответ на искусственную дефолиацию в разные фазы се-

зонного развития в природных условиях и в культуре в лесостепи Западной Сибири.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование ТИА проводили по методике Ю.Я. Гофмана и И.М. Вайсблая (1975), модифицированной для определения значений этого признака в высушенных листьях (Методы..., 1987; Zhmud et al., 2018). Значения ТИА выражены в миллиграммах чистого бычьего трипсина, связанного ингибитором, на 1 г воздушно-сухой муки листьев (мг/г сухой массы, далее мг/г). В качестве субстрата использованы БАПА (Na-бензоил-DL-аргинин-п-нитроанилид) и бычий трипсин производства ISN-Biomedical (USA). Метод основан на спектрофотометрическом измерении величины оптической плотности продуктов распада белкового субстрата (БАПА) под действием трипсина при длине волны 405 нм. В качестве буфера использовали 0.05 М трис-HCl-0.02 М CaCl₂ (pH = 7.7); ТИА считали низкой при значениях менее 25 мг/г, высокой – при значениях 25 мг/г и выше.

В природных условиях ТИА изучена у зрелых генеративных особей *H. theinum* в Республике Алтай (РА): Усть-Коксинский р-н (окр. с. Кайтанак, 2010 г.; образцы с растений в фазе плодоношения предоставлены к.б.н. Н.С. Зиннер, СибБС ТГУ) и Шебалинский р-н (перевал Семинский, 2016 г.). В культуре – в лесостепи Западной Сибири (ЗС) в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН (г. Новосибирск, 2017 г.; использованы образцы из коллекции живых растений, куратор Н.А. Карнаухова). Уход за растениями состоял в проведении регулярной прополки в течение периода вегетации. Искусственная дефолиация (удаление листьев) проведена у 10 живых зрелых генеративных маркированных особей. Убирали по 1 листу с осевого генеративного побега с интервалом в

5 мин по секундомеру. Всего с каждого побега были поочередно удалены 4 листа. Таким образом, опыт проводили в течение 15 мин. В культуре листья у каждой особи удаляли трижды за сезон, поэтому для проведения процедуры были выбраны хорошо облиственные побеги не менее чем с 12–14 листьями и наличием ветвления; ТИА при дефолиации изучена в культуре – в 2017 г. у особей в фазах бутонизации, цветения и плодоношения (07.06, 14.07 и 17.07); в РА (20.07.2016 г.) – одновременно у особей, произрастающих в пределах данной ценопопуляции в разных фазах сезонного развития (цветения и плодоношения).

По итогам анализа изменения значений ТИА изученные особи были разделены на две группы. К первой группе нами отнесены устойчивые особи, их обозначили как st-особи (stabilized). У них к концу 15-минутного интервала ТИА восстанавливалась до первоначальных значений или выше них, а также сюда отнесены особи с отсутствием реакции на дефолиацию. У особей второй группы при проведении опыта отмечено более медленное восстановление значений ТИА, и к концу 15-минутного интервала она не восстанавливалась до первоначальных значений, а оставалась пониженной. Мы назвали их sr-особями (slow response). Результаты обработаны методами классической вариационной статистики, графическое отображение выполнено с использованием пакета программ STATISTICA 8.0. В работе приведена только статистически достоверная разница значений признаков ($P = 0.05$). Достоверность различий средних значений признаков в выборках оценивалась по непараметрическому критерию Wilcoxon–Mann–Whitney U -test (2017).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По большинству изученных морфометрических параметров у особей вида в природных условиях и в культуре нами не найдено достоверных отличий (см. рис. 1, табл. 1). По нашим данным, в культуре растения вида формировали более высокое (в 3.6 раза) число развитых боковых побегов и больше побегов в особи. В природных условиях наблюдалось меньшее число (в среднем 5.9 ± 0.8) побегов на особи, а в культуре – 24.6 ± 3.3 , что достоверно выше в 4.2 раза. Листья у *H. theinum* сложные, непарноперистые, состоят из 6–12 листочков, их размеры достигают 10–15 см. На генеративном побеге развивается от 7 до 15 листьев. В природных условиях особи этого вида отличались более высокой облиственностью генеративных побегов (см. табл. 1).

Для интерпретации полученных результатов важно проанализировать данные не только о реакции растений *H. theinum* непосредственно в ответ на стресс (искусственную дефолиацию), но и сведения о динамике ТИА в течение периода вегетации, что позволяет судить об их устойчивости в определенной фазе сезонного развития. Показано, что в культуре в лесной зоне Западной Сибири при воздействии на растения вида аномально резких перепадов температуры в начале вегетационного периода (2009 г., СибБС ТГУ, г. Томск) значения этого признака в средних образцах листьев могли достигать высоких значений, сопоставимых с ТИА в семенах сои, которые являются эталоном (Жмудь и др., 2012). В лесостепи ЗС климатические условия в целом характеризуются как более

Морфометрические параметры особей *Hedysarum theinum* в природных условиях и в культуре

Параметр*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>РА, Шебалинский район, перевал Семинский</i>												
<i>M</i>	69.1	–	3.4	1.0	10.1	10.4	1.0	0.5	10.3	2.6	3.3	2.8
<i>m</i>	5.6	–	0.1	0.0	1.9	0.4	0.4	0.2	0.7	0.7	0.7	0.4
<i>C_v</i> , %	25.5	–	13.8	14.9	58.4	13.0	124.7	105.4	22.9	87.3	64.0	49.9
min	46.0	–	2.6	0.7	1.0	9.0	0.0	0.0	7.0	0.0	1.0	1.0
max	95.0	–	4.2	1.1	19.0	13.0	3.0	1.0	15.0	7.0	7.0	5.0
<i>ЦСБС СО РАН, г. Новосибирск</i>												
<i>M</i>	69.7	11.7	2.8	1.3	8.3	8.7	3.6	1.4	6.2	9.3	15.3	2.8
<i>m</i>	3.5	1.2	0.3	0.1	1.0	0.2	0.9	0.2	0.2	3.0	3.5	0.4
<i>C_v</i> , %	12.2	26.9	22.7	12.2	30.9	6.0	57.6	39.1	6.6	84.5	60.2	34.7
min	59.0	8.5	1.9	1.1	4.8	8.0	1.0	1.0	6.0	2.0	6.0	1.0
max	83.0	16.5	3.6	1.5	11.5	9.0	6.0	2.0	7.0	24.0	28.0	4.0

*Статистические параметры: *M* – среднее значение; *m* – ошибка среднего; *C_v*, % – коэффициент вариации; min–max – амплитуда значений; 1 – длина побега, см; 2 – диаметр каудекса, см; 3 – длина листочка, см; 4 – ширина листочка, см; 5 – длина соцветия, см; 6 – число междоузлий на побеге; 7 – число боковых побегов; 8 – число порядков ветвления; 9 – число листьев; 10 – число вегетативных побегов; 11 – число генеративных побегов; 12 – число соцветий на одном генеративном побеге. Прочерк – отсутствие данных.

теплые и сухие по сравнению с природными условиями, в которых был изучен *H. theinum* (РА, перевал Семинский). Так, 2017 г. в Новосибирской области был теплым: средняя годовая температура воздуха составила плюс +3.0 °С на юге и юго-западе области, что выше нормы на 1.0–1.6 °С. Годовое количество осадков составляло 300–600 мм, что около и больше нормы – 90–140 % (О состоянии..., 2018). Согласно климатической сводке, на Семинском перевале среднегодовая температура воздуха составляет 0 °С, а среднегодовое количество осадков – 600–700 мм (<https://oort-ra.ru/index.php/portfolio/item/12-pereval-seminskij>; дата обращения: 05.2019). Таким образом, в изученных природных условиях климат можно охарактеризовать в целом как более прохладный и влажный.

Исследование ТИА в средних образцах листьев *H. theinum*, проведенное в 2010 г. в природных условиях РА, показало, что значения этого признака были выше в фазе цветения растений по сравнению с фазами бутонизации и плодоношения (Жмудь и др., 2012). При изучении индивидуальной изменчивости ТИА данная тенденция получила статистически достоверное подтверждение (рис. 2, а). Так, в природных условиях (РА, перевал Семинский) в 2016 г. ТИА в листьях у цветущих растений *H. theinum* также была выше, чем в фазе плодоношения (см. рис. 2, б). В культуре эта тенденция может нарушаться. Например, ТИА у *H. theinum* в фазе цветения в лесной зоне ЗС (СибБС ТГУ, г. Томск, 2010 г.) не изменялась в течение вегетационного периода (Жмудь и др., 2012).

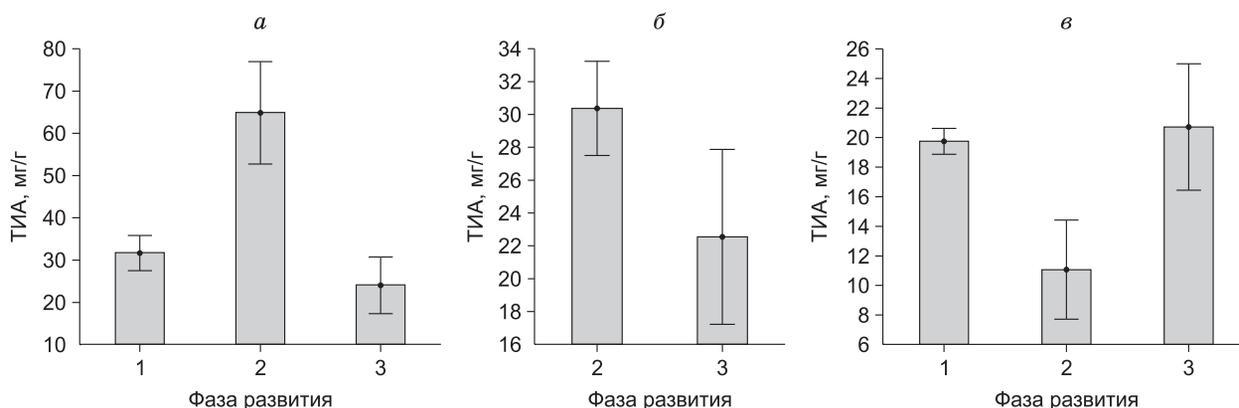


Рис. 2. Изменчивость значений ТИА в разных фазах сезонного развития *Hedysarum theinum* (1–3):

а – в природных условиях (РА, Усть-Коксинский р-н, окр. с. Кайтанак, 2010 г.); б – в природных условиях (РА, Шебалинский р-н, перевал Семинский, 2016 г.); в – в культуре в лесостепной зоне Западной Сибири (ЦСБС СО РАН, 2017 г.). ТИА, мг/г сухой массы с 95%-м доверительным интервалом. Фазы сезонного развития растений: 1 – бутонизация, 2 – цветение, 3 – плодоношение.

Таблица 2

**Изменчивость значений ТИА (мг/г сухой массы)
в листьях у *Hedysarum theinum*
в разных фазах сезонного развития
в различных эколого-географических условиях**

Показатель	ЦСБС СО РАН, г. Новосибирск			РА, Семиинский перевал	
	Буто- низация	Цветение	Плодо- ношение	Цветение	Плодо- ношение
М	19.8 ± 0.6	10.7 ± 1.1	22.4 ± 2.6	30.4 ± 1.3	22.6 ± 2.4
C _v , %	10.0	33.8	36.4	13.2	33.0

В культуре в ЦСБС СО РАН в фазе цветения в течение периода вегетации в 2017 г. ТИА характеризовалась достоверно более низкими значениями, чем в фазах бутонизации и плодоношения (см. рис. 2, в). Кратность значений составила в культуре 6.3 раза, а в природных условиях (РА, Семиинский перевал) – 3.2 раза (табл. 2).

При проведении искусственной дефолиации в культуре (ЦСБС СО РАН, 2017 г.) в течение 5–10 мин после удаления первого листа в фазе бутонизации у большей части особей увеличилась ТИА на 10 % (в 1.1 раза). Через 15 мин у половины

особей значения ТИА повысились на 10 % или были восстановлены до первоначальных, а у другой половины – снижались на 10–30 % (в 1.1–1.3 раза) (табл. 3).

В фазе цветения (через 10 мин после начала эксперимента) у 70 % особей в культуре ТИА повышалась в 1.2–1.7 раза по сравнению с первоначальными значениями. Через 15 мин после начала опыта значения ТИА увеличивались у 20 % цветущих особей, а до первоначальных значений восстанавливались у 30 %; у одной особи реакция на дефолиацию отсутствовала и значения ТИА на протяжении опыта не изменялись. Иными словами, прежние или повышенные значения ТИА к концу эксперимента отмечены у 60 % особей вида. У одной особи значения ТИА снизились до нуля и не восстановились к концу эксперимента.

В фазе плодоношения в культуре через 10 мин после начала дефолиации у 60 % особей ТИА снижалась в 1.5–2.2 раза по сравнению с первоначальными значениями. В конце эксперимента значения ТИА повышались или восстанавливались до первоначальных у 60 % особей, а у 40 % оставались пониженными в 1.3–1.5 раза (см. табл. 3). Таким образом, в культуре преобладали устойчивые осо-

Таблица 3

**Значения ТИА (мг/г сухой массы) при искусственной дефолиации у особей *Hedysarum theinum*
в культуре и в природных условиях**

Образец	t**	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	min	max
К-I*	к	18.0	24.0	22.5	19.5	18.0	19.5	19.5	19.5	19.5	18.0	18.0	24.0
	5'	18.0	21.0	19.5	16.5	19.0	21.0	19.5	21.0	21.0	19.5	16.5	21.0
	10'	24.0	21.0	21.0	21.0	18.0	21.0	22.5	18.0	19.5	18.0	18.0	24.0
	15'	21.0	18.0	24.0	16.5	19.5	21.0	19.5	18.0	18	16.5	16.5	24.0
К-II	к	8.6	8.6	15.1	15.1	10.8	10.8	8.6	6.5	6.5	16.2	6.5	16.2
	5'	8.6	8.6	14.0	21.6	11.9	8.6	10.8	4.3	10.8	15.1	4.3	21.6
	10'	8.6	10.8	18.4	22	18.4	10.8	10.8	0	8.6	19.4	0	22.0
	15'	8.6	8.6	17.3	16.2	8.6	8.6	8.6	0	6.5	10.8	0	17.3
К-III	к	13.1	19.6	21.3	24.5	37.6	31.1	18.0	13.1	16.4	29.4	13.1	37.6
	5'	9.8	27.8	26.2	31.1	37.6	18.0	16.4	18.0	16.4	21.3	9.8	37.6
	10'	8.2	27.8	9.8	16.4	24.5	21.3	18.0	13.1	24.5	14.7	8.2	27.8
	15'	9.8	22.2	21.3	18.0	27.8	31.1	18.0	14.7	21.3	19.6	9.8	31.1
П-II	к	22.5	29.3	31.5	36.0	31.5	33.8	27.0	33.8	27.0	31.5	22.5	36.0
	5'	20.3	24.8	29.8	36.0	31.5	31.5	29.8	27	29.8	31.5	20.3	36.0
	10'	22.5	22.5	24.8	36.0	31.5	33.8	29.8	33.8	24.8	31.5	22.5	36.0
	15'	24.8	24.8	27.0	36.0	31.5	31.5	27.0	33.8	29.8	31.5	24.8	36.0
П-III	к	22.2	26.9	12.7	31.8	31.8	15.9	12.7	22.2	19.1	30.2	12.7	31.8
	5'	20.6	19.1	12.7	34.9	19.1	17.5	12.7	17.5	17.5	31.8	12.7	34.9
	10'	20.6	14.3	12.7	31.8	25.4	19.1	15.9	15.9	19.1	38.1	12.7	38.1
	15'	20.6	17.5	11.1	30.2	26.9	19.1	14.3	26.9	14.3	30.2	11.1	30.2

Примечание. I–III – фазы развития растений: I – бутонизация, II – цветение, III – плодоношение. 1–10 – порядковые номера изученных особей. Полу жирным шрифтом отмечены значения ТИА стабильные или с увеличением в конце 15-минутного интервала после дефолиации.

* К – культура (ЦСБС СО РАН, г. Новосибирск); П – природные условия (РА, Шебалинский район, перевал Семиинский).

** t – время (мин); к – контроль; 5'–15' – время от начала дефолиации.

би (50–60 %), ТИА у которых либо не изменялись в ответ на повреждение, либо восстанавливались до первоначальных значений или выше них к концу 15-минутного интервала.

В результате проведения искусственной дефолиации в природных условиях РА получены несколько иные результаты. Здесь в фазе цветения у половины особей в первые 5–10 мин после начала опыта значения ТИА снижались в 1.1–1.3 раза. Через 10 мин у 60 % особей они восстанавливались до первоначальных; у трех особей ответная реакция на дефолиацию отсутствовала. Через 15 мин после начала опыта у двух из семи отреагировавших на дефолиацию особей произошло восстановление значений ТИА до начального уровня, у двух – увеличение на 10 %, т. е. у 70 % цветущих особей в РА значения ТИА к концу опыта не изменялись, восстанавливаясь до первоначальных, либо повышались (см. табл. 3).

В фазе плодоношения в природных условиях у 60 % особей в листьях через 5–15 мин после начала дефолиации понижались значения ТИА в 1.1–1.9 раза, у 30 % особей повышались в 1.1–1.3 раза, а у одной особи восстановились первоначальные значения признака. Таким образом, в природных условиях снижение значений ТИА в конце эксперимента выявлено у 60 % плодоносящих особей (см. табл. 3).

Таким образом, при проведении дефолиации в культуре в фазе бутонизации в конце 15-минутного интервала значения ТИА возвращались к первоначальному у 50 % особей, а в фазах цветения и плодоношения – у 60 % особей. В природных условиях у цветущих особей ТИА при дефолиации не изменялась или повышалась у 70 % особей, а в фазе плодоношения – у 40 %. Отличия по реакции

цветущих особей *H. theinum* на дефолиацию в разных эколого-географических условиях произрастания заключались в изменении значений ТИА в первые 5–10 мин от начала эксперимента. Так, в условиях культуры происходило увеличение ТИА у большинства особей через 10 мин, а в природных условиях – снижение ТИА в первые 5 мин после начала эксперимента.

Распределение особей по группам в соответствии с их устойчивостью к стрессовому воздействию показало, что в культуре соотношение особей, способных к стабилизации ТИА после дефолиации (st-группа), и с пониженной ТИА (sr-группа) в фазе бутонизации составило 1:1, а в фазах цветения и плодоношения – 3:2. Стабильная ТИА при дефолиации в течение двух-трех фаз сезонного развития в культуре обнаружена у 60 % особей; 30 % особей характеризовались пониженной устойчивостью в течение двух фаз сезонного развития, а у одной (№ 10) при проведении дефолиации ТИА понижалась во всех трех фазах сезонного развития (см. табл. 3).

Соотношение особей st:sr несколько отличалось в природе по сравнению с условиями культуры. Так, в естественной среде в фазе цветения преобладали устойчивые особи (соотношение st:sr – 7:3). В фазе плодоношения оно составляло уже 2:3, т. е. устойчивых особей было значительно меньше. Основные отличия по устойчивости в различных эколого-географических условиях выражались в определенном снижении защитных сил у цветущих растений *H. theinum* в культуре и затем в более активном их восстановлении в фазе плодоношения после повреждения. Соответственно в природных условиях в фазе плодоношения доля устойчивых особей была ниже.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе формирования годичного побега происходит закономерная трансформация ИТ из антистрессовых белков, синтезирующихся в листьях в начале вегетационного периода, в запасные белки семян – осенью при его завершении. Достоверно более высокие значения ТИА у цветущих особей и их снижение к фазе плодоношения являются закономерной частью сезонного развития особей *H. theinum* в природных условиях. Эти процессы формировались на протяжении многих поколений при длительной адаптации вида к естественным местообитаниям на абсолютных высотах более 1600 м с более низкой среднегодовой температурой воздуха, высокой влагообеспеченностью и относительно коротким вегетационным периодом, характерным для горных условий, по сравнению с климатическими условиями лесосте-

пи ЗС. Наличие достоверно более низкой ТИА у цветущих особей *H. theinum* в новых условиях, по сравнению со значениями этого признака в фазах бутонизации и плодоношения, указывает на снижение их защитных свойств. Причины такого явления до конца не ясны, и одной из них может служить лимитирующее воздействие более сухого и теплого климата лесостепи ЗС.

При проведении эксперимента выявлено, что изменения ТИА в ответ на искусственную дефолиацию у изученных представителей *H. theinum* носили индивидуальный характер, зависели от эколого-географических условий и отличались в разных фазах сезонного развития растений. Некоторое повышение значений ТИА при дефолиации (на 10–30 %), отмеченное у цветущих особей в разных эколого-географических условиях, объясняет

ся мобилизацией защитных сил для поддержания жизнедеятельности в этот критический период сезонного развития.

Преобладание устойчивых особей, установленное в фазе плодоношения в культуре, может быть вызвано отсутствием ценотической конкуренции, а также замедлением процесса трансформации антистрессовых белков в запасные белки семян в связи с более длительным периодом вегетации по сравнению с природными условиями. Отсутствие восстановления или увеличения значений ТИА у отдельных изученных представителей *H. theinum* к концу эксперимента при дефолиации может быть связано с нарушением устойчивости, которая отмечается у различных видов растений в период их репродуктивного развития (Чиркова, 2002). Изученные изменения ТИА в ответ на стресс были обратимы, имели адаптивный характер и мо-

гут трактоваться как “физиологические коррективы” (Körner, 2016). Выявленная при исследовании устойчивость к стрессовым воздействиям в фазе цветения у большей части изученных особей *H. theinum* в различных эколого-географических условиях может служить одним из критериев высоких адаптационных возможностей вида.

В статье использовался материал Биоресурсной коллекции ЦСБС СО РАН, УНУ “Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте”, USU 440534.

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН “Оценка морфогенетического потенциала популяций растений Северной Азии экспериментальными методами”, № АААА-А17-117012610051-5.

ЛИТЕРАТУРА

- Высочина Г.И.** Биохимические аспекты исследования проблем экологии, интродукции и систематики // Сиб. экол. журн. 1999. № 3. С. 207–211.
- Гофман Ю.Я., Вайсблай И.М.** Определение ингибитора трипсина в семенах гороха // Прикл. биохимия и микробиология. 1975. Т. 11, № 5. С. 777–783.
- Дорогина О.В., Жмудь Е.В.** Трипсинингибирующая активность в листьях кормовых бобовых растений // Сиб. вестн. с.-х. науки. 2010. № 10. С. 23–28.
- Жмудь Е.В., Зиннер Н.С., Дорогина О.В.** Динамика трипсинингибирующей активности в листьях растений *Hedysarum theinum* Krasnob. (*Fabaceae* Lindl.) в различных эколого-географических условиях и при механических повреждениях // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2012. № 3 (19). С. 100–109.
- Красная книга Республики Алтай (растения).** Горно-Алтайск, 2017. 267 с.
- Методы биохимического исследования растений /** под ред. А.И. Ермакова. Л., 1987. С. 44–45.
- Мосолов В.В., Валуева Т.А.** Ингибиторы протеиназ в биотехнологии растений (обзор) // Прикл. биохимия и микробиология. 2008. Т. 44, № 3. С. 261–269.
- О состоянии и об охране окружающей среды Новосибирской области в 2017 году.** Новосибирск, 2018. 225 с. URL: https://www.nso.ru/sites/test.new.nso.ru/wodby_files/files/wiki/.../doklad-2017.docx
- Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность.** Т. 3. Семейства *Fabaceae–Ariaceae*. СПб.; М., 2010. 601 с.
- Трифонов Е.А., Кочетов А.В., Шумный В.К.** Молекулярные механизмы системной устойчивости растений к вирусным инфекциям и способы повышения вирусоустойчивости путем трансгенеза // Успехи соврем. биологии. 2007. Т. 127, № 1. С. 13–24.
- Фролова С.А.** Влияние низкотемпературного закаливания на активность протеиназно-ингибиторной системы растений: автореф. дис. ... канд. биол. наук. 03.00.04. Биохимия / С.А. Фролова. Петропавловск, 2008. 23 с.
- Чиркова Т.В.** Физиологические основы устойчивости растений / Т.В. Чиркова. СПб., 2002. 244 с.
- Шакирова Ф.М.** Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция / Ф.М. Шакирова. Уфа, 2001. 160 с.
- Alarson J.J., Malone M.** The influence of plant age on wound induction of proteinase inhibitors in tomato // Physiol. Plant. 1995. V. 95. P. 423–427.
- Bode R.F., Halitschke R., Kessler A.** Herbivore damage-induced production and specific anti-digestive function of serine and cysteine protease inhibitors in tall goldenrod, *Solidago altissima* L. (*Asteraceae*) // Planta. 2013. V. 237, No. 5. P. 1287–1296.
- Carasco I.F., Xavier-Filho I.** Sequential expression of trypsin inhibitors in developing fruit of compea (*Vigna unguiculata*) // Ann. Bot. 1981. V. 47, No. 2. P. 259–256.
- Dombrowski J.E.** Salt stress activation of wound-related genes in tomato plants // Plant Physiol. 2003. V. 132. P. 2098–2107.
- Jouanin L., Bonade-Bottino M., Girard C.** Transgenic plants for insect resistance // Plant Sci. 1998. V. 131. P. 1–11.
- Kazan K., Manners J.M.** Jasmonate Signaling: Toward an Integrated View // Plant Physiol. 2008. V. 14. P. 1459–1468.
- Kidric M., Kos J., Sabotic J.** Protease and their endogenous inhibitors in the plant response to abiotic stress // Bot. Serbica. 2014. V. 38. P. 139–158.
- Koivi H., Bressan R.A., Hasegawa P.M.** Regulation of protease inhibitors and plant defense // Trends Plant Sci. 1997. V. 2. P. 379–384.

- Körner C.** Plant adaptation to cold climates. Version 1. F1000 Res. 2016; 5: F1000 Faculty Rev-2769. Published online 2016 Nov 25.
- Ryan C.A.** The systemic signalling pathways: differential activation of plant defensive genes // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000. V. 1477. P. 112–121.
- Shamei Z.E., Wu J.W., Haard N.F.** Influence of wound injury on accumulation of proteinase inhibitors in leaf and stem tissues of two processing tomato cultivars // *J. Food Biochem.* 1996. V. 20. P. 155–171.
- Wilcoxon–Mann–Whitney U-test.** URL: <http://med-statistic.ru/theory/mann.html> (дата обращения: март, 2017).
- Zavala J.A., Patankar A.G., Gase K., Baldwin I.T.** Constitutive and inducible trypsin proteinase inhibitor production incurs large fitness costs in *Nicotiana attenuate* // *PNAS* February 10; Edited by Clarence A. Ryan, Jr. Washington State University, Pullman, WA. 2004. V. 101, No. 6. P. 1607–1612.
- Zhmud E., Kuban I., Emtseva M., Dorogina O.** Comparative analysis of trypsin inhibitor activity in the wet and dry weight of leaves in representatives of *Hedysarum* L. in the foreststeppe of Western Siberia // *BIO Web of Conf.: IV(VI)th All-Russia Scientific-Practical Conference “Prospects of Development and Challenges of Modern Botany”.* Article Number 00052. 2018. V. 11.

*Поступила в редакцию 18.03.2019 г.,
после доработки – 05.08.2019 г.,
принята к публикации 15.10.2019 г.*