

## Активность оксидоредуктаз семян и проростков сои в условиях грибковой инфекции *Septoria glycines* Hemmi

В. А. Кузнецова<sup>1✉</sup>, А. А. Блинова<sup>1</sup>, О. Н. Тарасова<sup>1</sup>, Л. Е. Иваченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт сои, Благовещенск, Россия

✉ E-mail: kuzvika3385@yandex.ru

**Аннотация.** Исследование направлено на проведении анализа оксидоредуктазной активности семян и проростков сои, зараженных грибковой инфекцией *Septoria glycines* Hemmi. **Методы исследований.** Объектом исследования были семена, собранные с растений сои (*Glycine max* (L.) Merr) сорта Лидия, выращенных на луговой черноземовидной почве опытного поля ФГБНУ ВНИИ сои в с. Садовое Амурской области в 2019 г. Содержание малонового диальдегида определяли с применением тиобарбитуриевой кислоты. Активность супероксиддисмутазы и каталазы определяли спектрофотометрическим методом, а активность пероксидазы и полифенолоксидазы – колориметрическим методом. Электрофоретические спектры исследуемых ферментов выявляли методом электрофореза на колонках 7,5-процентного полиакриламидного геля. Выявление на геле зон с ферментативной активностью проводили соответствующими гистохимическими методами. **Результаты.** В результате исследований установлено, что на 10-е сутки зараженность проростков составила 8,75 %. При этом под воздействием *Septoria glycines* Hemmi наблюдалось замедление ростовых процессов, возрастал уровень малонового диальдегида, что свидетельствует об увеличении окислительных процессов. Длина проростков, зараженных септориозом, оказалась на 2,7 % меньше по сравнению с незараженными, масса зараженных проростков снизилась на 0,15 г. При инфицировании сои септориозом произошла ответная реакция семян и проростков сои, выраженная в изменении удельной активности исследуемых ферментов и перестройки их множественных форм. Снижение окислительного стресса в семенах произошло за счет повышения активности супероксиддисмутазы, пероксидазы и полифенолоксидазы, для проростков – за счет повышения активности только пероксидазы. **Научная новизна.** Установлено, что супероксиддисмутаза в семенах сои обладает высокой отзывчивостью к патогену. Это выражается в повышенной удельной активности и значительном полиморфизме фермента, что позволяет использовать его в качестве молекулярного маркера повышения устойчивости сои к патогену. **Ключевые слова:** соя, септориоз, удельная активность, множественные формы, оксидоредуктазы, малоновый диальдегид, окислительный стресс.

**Для цитирования:** Кузнецова В. А., Блинова А. А., Тарасова О. Н., Иваченко Л. Е. Активность оксидоредуктаз семян и проростков сои в условиях грибковой инфекции *Septoria glycines* Hemmi // Аграрный вестник Урала. 2020. № 07 (198). С. 47–55. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-198-7-47-55.

**Дата поступления статьи:** 15.05.2020.

### Постановка проблемы (Introduction)

Соя является важной масличной культурой во всем мире. Основным регионом возделывания сои в России является Дальний Восток, климат которого характеризуются недостатком тепла для сои и периодическим избытком влаги. При этом важным фактором устойчивого развития сельскохозяйственного производства является предотвращение потерь урожая сои от комплекса фитопатогенных возбудителей, к которым также относится *Septoria glycines* Hemmi [1, с. 12–14]. Разнообразные болезни (патогены) оказывают неблагоприятное влияние на периоды развития сои, особенно на прорастание семян и ее дальнейшее развитие на начальной стадии онтогенеза. Возникающие на растениях сои болезни могут быть очень вредоносными в различных природно-климатических зонах возделывания, нанося ощутимый вред ее производству и качеству зерна, снижая при этом ее продуктивность. Борьба с вредными организмами должна проводиться экологически безопасными и обоснованными методами [2, с. 25–28], [3].

Распространенность и развитие болезней на сое усугубляется расширением площадей ее возделывания, а также несоблюдением агротехнических приемов сельскохозяйственными производителями [4, с. 172–173]. К ним относятся нарушение регламентов применения фунгицидных препаратов, отсутствие механической обработки почвы и несоблюдение севооборотов. При этом фитопатогены ежегодно накапливаются в почве, передаются через семена, все больше поражают возделываемую культуру, значительно снижают ее урожайность. Данный аспект наносит серьезный ущерб экономическому сектору, что обуславливает главную проблему сельского хозяйства [2].

Для получения высоких урожаев сои основные требования предъявляются к ее сортовым особенностям, а именно к продукционным способностям сорта, его адаптивности к агроклиматическим условиям и устойчивости к патогенам, в том числе к септориозу [1, с. 12–17], [5, с. 8–15]. Септориоз (возбудитель – *Septoria glycines* Hemmi) проявляется на пораженных семенах, всходах и

взрослых растениях в виде пятен. При этом на поверхности появляются углубленные пикниды с конидиями. Основная вредоносность септориоза состоит в образовании окислительного стресса и снижении урожайности, при этом потеря урожая может достигать 50–70 %. Ветер способствует инфицированию других растений сои, а частые дожди, обильные росы и высокая температура во второй половине июля и в августе содействуют усилению развития септориоза [6, с. 1–10], [7], [8, с. 223–225].

Одним из наиболее важных процессов повреждения клеток растений, в том числе сои, на биохимическом уровне и возможных компонентов быстрой реакции на возникающий окислительный стресс, вызванный действием *Septoria glycines* Hemmi, является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) [9], [10, с. 91]. В качестве биомаркера для определения интенсивности ПОЛ в органах растений часто используют содержание малонового диальдегида (МДА) [11].

Для выявления механизма устойчивости сои к окислительному стрессу актуальным является анализ актив-

ности антиоксидантных ферментов, участвующих в защите клетки от стресса [12, с. 61], [14, с. 68–72]. К таким ферментам в первую очередь относятся оксидоредуктазы, которые являются универсальным индикатором состояния растения и инактивируют активные формы кислорода (АФК) [13]. В группу оксидоредуктаз включаются супероксиддисмутаза (СОД, ЕС 1.15.1.1), каталаза (КАТ, ЕС 1.11.1.6), пероксидаза (ПОД, ЕС 1.11.1.7), полифенолоксидаза (ПФО, ЕС 1.10.3.1) [9], [14]. По их удельной активности и множественным формам можно оценить уровень устойчивости сои к стрессовому фактору, в том числе к септориозу [1]. При этом анализ спектра множественных форм имеет большое значение для изучения регуляторных механизмов, контролирующих метаболизм и характер их распределения. Электрофоретический спектр отражает процессы адаптации, происходящие на молекулярном уровне, что может использоваться для изучения протекания различных заболеваний [1]. Данная область исследований пока мало изучена и является актуальной при создании адаптивных сортов сои к болезням, в частности к септориозу.

Таблица 1  
Биометрические показатели десятидневных проростков сои, зараженных и незараженных *Septoria glycines* Hemmi

| Варианты опыта                        | Биометрические показатели проростков |                               |                              |                                |                              |                             | Всхожесть, % |
|---------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|--------------|
|                                       | $L_{\text{растения сред., мм}}$      | $L_{\text{стебля сред., мм}}$ | $L_{\text{корня сред., мм}}$ | $m_{\text{растения сред., г}}$ | $m_{\text{стебля сред., г}}$ | $m_{\text{корня сред., г}}$ |              |
| Незараженные проростки сои (контроль) | 40,20                                | 19,80                         | 20,40                        | 1,30                           | 0,93                         | 0,37                        | 90,00        |
| Зараженные проростки сои              | 37,50                                | 17,80                         | 19,70                        | 1,15                           | 0,88                         | 0,27                        | 84,00        |
| HCP <sub>05</sub>                     | 0,20                                 | 0,30                          | 0,20                         | 0,30                           | 0,10                         | 0,10                        | —            |

Table 1  
Biometrics indicators of ten-day-old soybean seedlings, infected and uninfected *Septoria glycines* Hemmi

| Experience options                     | Biometric indicators of seedlings |                               |                               |                                |                              |                              | Germination, % |
|----------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------|
|                                        | $L_{\text{plants average, mm}}$   | $L_{\text{stem average, mm}}$ | $L_{\text{root average, mm}}$ | $m_{\text{plants average, g}}$ | $m_{\text{stem average, g}}$ | $m_{\text{root average, g}}$ |                |
| Uninfected soybean seedlings (control) | 40.20                             | 19.80                         | 20.40                         | 1.30                           | 0.93                         | 0.37                         | 90.00          |
| Infected soybean seedlings             | 37.50                             | 17.80                         | 19.70                         | 1.15                           | 0.88                         | 0.27                         | 84.00          |
| LSD <sub>05</sub>                      | 0.20                              | 0.30                          | 0.20                          | 0.30                           | 0.10                         | 0.10                         | —              |

Таблица 2  
Содержание малонового диальдегида в семенах и проростках сои, мкмоль/г сухой массы

| Показатель     | Семена сои    |                        | Проростки сои |                        |
|----------------|---------------|------------------------|---------------|------------------------|
|                | Без заражения | Зараженные септориозом | Без заражения | Зараженные септориозом |
| Содержание МДА | 0,141 ± 0,014 | 0,152 ± 0,013          | 0,148 ± 0,006 | 0,175 ± 0,004          |

Table 2  
The content of malondialdehyde in seeds and soybean seedlings, μmol/g dry weight

| Indicator          | Soybean seeds     |                               | Soybean seedlings |                               |
|--------------------|-------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------------------|
|                    | Without infection | Infected with <i>Septoria</i> | Without infection | Infected with <i>Septoria</i> |
| Content of the MDA | 0.141 ± 0.014     | 0.152 ± 0.013                 | 0.148 ± 0.006     | 0.175 ± 0.004                 |

Таблица 3

Удельная активность оксидоредуктаз семян и проростков сои, зараженных и незараженных септориозом

| Объект исследования |             | Удельная активность фермента, ед/мг белка |           |            |            |
|---------------------|-------------|-------------------------------------------|-----------|------------|------------|
|                     |             | СОД                                       | КАТ       | ПОД        | ПФО        |
| Семена              | Контрольные | 86,8 ± 5,6                                | 1,2 ± 0,2 | 51,0 ± 2,6 | 59,6 ± 5,4 |
|                     | Зараженные  | 140,0 ± 5,5                               | 0,7 ± 0,1 | 57,4 ± 3,0 | 69,3 ± 5,9 |
| Проростки           | Контрольные | 9,9 ± 0,9                                 | 0,7 ± 0,1 | 10,9 ± 0,5 | 1,3 ± 0,3  |
|                     | Зараженные  | 9,0 ± 0,7                                 | 0,6 ± 0,1 | 17,1 ± 0,7 | 1,2 ± 0,2  |

Table 3

Specific activity of oxidoreductases of seeds and soybean seedlings infected and uninfected with *Septoria*

| Object of study |          | The specific activity of the enzyme, unit/mg of protein |           |            |            |
|-----------------|----------|---------------------------------------------------------|-----------|------------|------------|
|                 |          | SOD                                                     | CAT       | POD        | PPO        |
| Seeds           | Control  | 86.8 ± 5.6                                              | 1.2 ± 0.2 | 51.0 ± 2.6 | 59.6 ± 5.4 |
|                 | Infected | 140.0 ± 5.5                                             | 0.7 ± 0.1 | 57.4 ± 3.0 | 69.3 ± 5.9 |
| Seedlings       | Control  | 9.9 ± 0.9                                               | 0.7 ± 0.1 | 10.9 ± 0.5 | 1.3 ± 0.3  |
|                 | Infected | 9.0 ± 0.7                                               | 0.6 ± 0.1 | 17.1 ± 0.7 | 1.2 ± 0.2  |

Цель исследований заключалась в проведении оценки влияния *Septoria glycines* Hemmi на семена и проростки сои на основании анализа активности оксидоредуктаз.

#### Методология и методы исследования (Methods)

Объектом для оценки влияния на семена и проростки грибковой инфекции *Septoria glycines* Hemmi была соя (*Glycine max* (L.) Merr) сорта Лидия. Семена собраны с растений сои, выращенной на луговой черноземовидной почве опытного поля ФГБНУ ВНИИ сои в с. Садовое Амурской области в 2019 г. Данный год отмечен изобилием осадков во второй половине лета (в июле выпало 262 мм осадков, что на 95 % выше нормы; в августе – 192 мм, что на 58 % выше нормы). Это способствовало интенсивному переувлажнению почвы и благоприятному развитию септориоза на растениях сои. Собранные семена сои отбирали и исследовали на базе лаборатории биотехнологии Всероссийского научно-исследовательского института сои. Отбор семенного материала, зараженного септориозом, проводился путем визуального отбора по следующим морфологическим признакам: наличие на семядолях округлых красно-коричневых пятен диаметром 6–10 мм с многочисленными пикнидами. Впоследствии проводили определение степени зараженности семян септориозом методом оценки 10-дневных проростков по признакам заболевания согласно ГОСТ 12044-93. Семена закладывали в рулонах по 50 штук без дезинфекции, проращивали в течение 10 суток в термостате при температуре 22–25 °С. Признаки инфекции: отдельные коричневые пятна на проростке; на ростках появлялись мелкие черные бугорки, при этом проростки могли быть искривленными. Иногда на оболочке проросших семян образовывались пикниды. Всхожесть семян определяли согласно ГОСТ 12038-84.

Определение содержания МДА проводили, основываясь на свойстве данного вещества при высокой температуре в кислой среде реагировать с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), образуя окрашенный триметиновый комплекс [15, с. 109].

Анализ активности СОД, КАТ, ПОД и ПФО семян и проростков сои проводили в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ВНИИ сои. Для получения экстрактов белков семян и проростков сои навеску материала (500 мг) гомо-

генизировали и экстрагировали в фарфоровых ступках в течение 15 минут при температуре 0–5 °С. Растворимые белки, содержащие СОД, КАТ, ПОД и ПФО, экстрагировали 15 мл раствора 0,15М хлорида натрия, затем центрифугировали в течение 15 мин. при 3000 об/мин [14, с. 70], [16, с. 82–83], [17, с. 88], [18, с. 105]. После центрифугирования осадок отбрасывали, в надосадочной жидкости определяли содержание белка по методу Лоури [18, с. 118].

Активность СОД определяли спектрофотометрическим методом, который основан на способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление тетразолиевого нитросинего [14, с. 70].

Активность КАТ определяли спектрофотометрическим методом, который основан на определении скорости разложения пероксида водорода каталазой исследуемого образца с образованием воды и кислорода [14, с. 70–71].

Активность ПОД определяли колориметрическим методом А. Н. Бояркина в модификации А. Т. Мокроносова, который основан на определении скорости реакции окисления бензидина до образования бензидинового синего в присутствии пероксида водорода и пероксидазы [16, с. 98].

Активность ПФО определяли спектрофотометрическим методом А. Н. Бояркина, который основан на измерении оптической плотности продуктов реакции, образовавшихся при окислении пирокатехина за определенный промежуток времени [16].

Определение удельной активности СОД, КАТ, ПОД и ПФО проводили в двух биологических и трех аналитических повторностях. Удельную активность ферментов выражали в ед/мг белка. Электрофоретические спектры исследуемых ферментов выявляли методом электрофореза на колонках 7,5-процентного полиакриламидного геля. Выявление на геле энзимных форм проводили соответствующими гистохимическими методами [15], [17, с. 89], [18, с. 131]. Для выявленных множественных ферментов (МФ) определяли значения их относительной электрофоретической подвижности (Rf) и строили схемы энзимогамм. Нумерация форм ферментов приведена от более высокоподвижных к низкоподвижным формам. Каждой форме ранее нами было присвоено свое сокращенное обозначение в соответствии со значениями их Rf (для ката-

лазы – К1–К8, пероксидазы – ПОД1–ПОД18, супероксид-дисмутазы – СОД1–СОД21, полифенолоксидазы – ПФО1–ПФО19) [12], [17].

Обработка результатов исследования выполнена с использованием статистических средств приложения STATISTICA 10. Для оценки связи между активностью СОД, КАТ, ПОД и ПФО был использован коэффициент корреляции. О достоверности изменений исследуемых параметров судили по различиям средних значений, используя критерий Стьюдента. В расчетах принят 5-процентный уровень значимости.

### Результаты (Results)

Период от прорастания семян до формирования всходов (фаза 1-го тройчатого листа) является критическим в жизненном цикле сои, в данный период соя наиболее подвержена воздействию различных фитопатогенов, которые влияют на ростовые, физиологические и биохимические процессы. Для выявления септориоза нами проведен визуальный осмотр семян и проростков сои. Установлено, что на 10-е сутки зараженность проростков составила 8,75 %. Анализ биометрических показателей здоровых и заражен-

ных проростков также подтвердил данные, полученные визуальным осмотром. При этом длина проростков, зараженных септориозом, оказалась на 2,70 % меньше по сравнению с незараженным образцом в контроле (таблица 1). Масса растения также снизилась на 0,15 г, длина стебля сократилась на 2 мм, масса стебля уменьшилась на 0,05 г. Значительные изменения затронули корневую систему растений, зараженных септориозом: длина корня уменьшилась на 0,70 мм, его масса – на 0,1 г.

Таким образом, наблюдается существенное замедление ростовых процессов под воздействием *Septoria glycines* Hemmi, что также подтверждается данными, полученными при анализе всхожести семян, которая снизилась на 6,00 %.

Концентрация МДА в семенах и проростках сои, зараженных септориозом, повысилась незначительно (на 0,01 и 0,02 мкмоль/кг сухой массы относительно контроля), что свидетельствует о протекании слабых окислительных процессов и подтверждает выводы Е. А. Семеновой [1], что данная болезнь в данном случае является достаточно слабой (таблица 2).

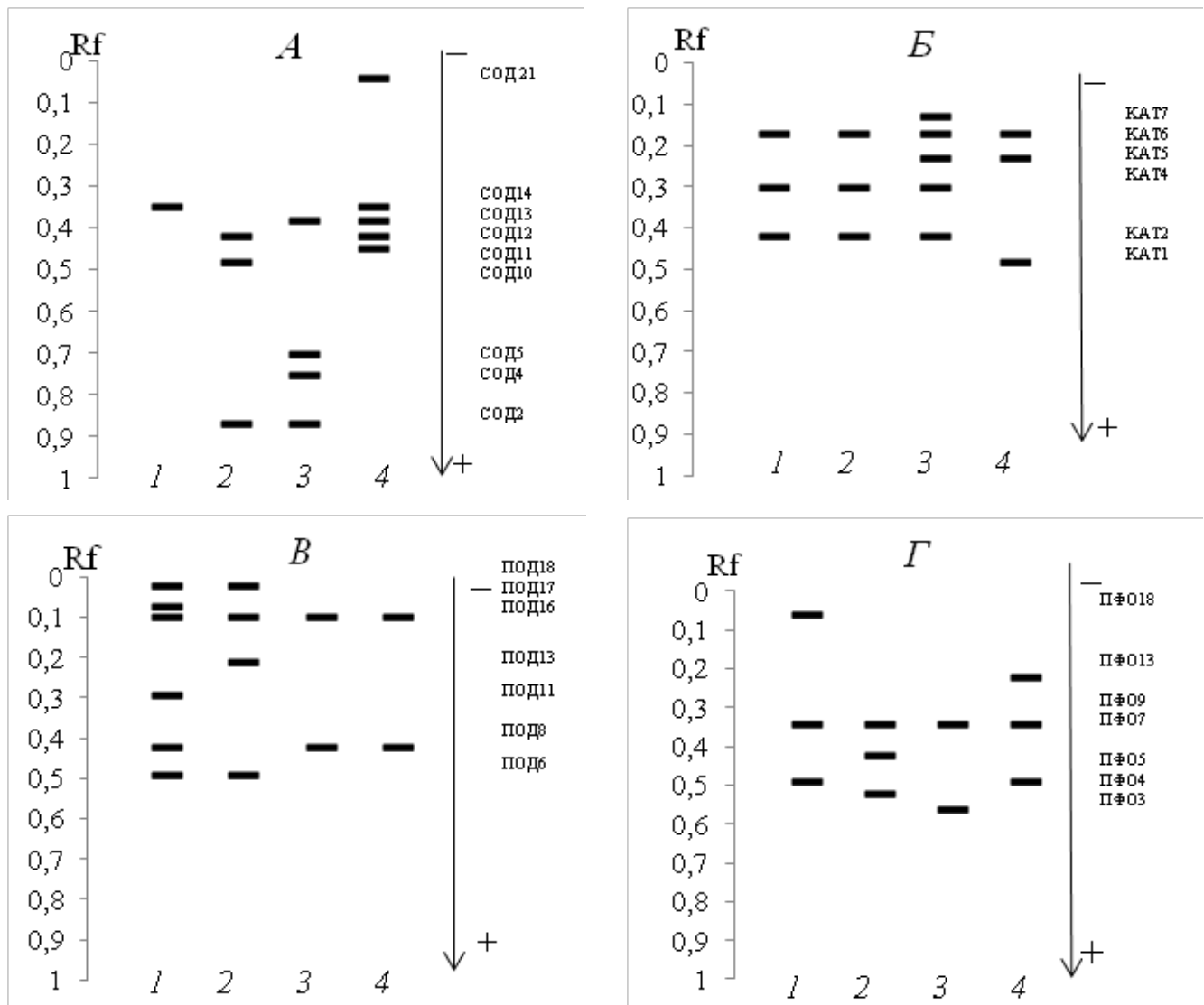


Рис. Схемы энзимогрaмм оксидоредуктаз (СОД (А), КАТ (Б), ПОД (В), ПФО (Г)) семян и проростков сои: 1 – семена без заражения, 2 – зараженные семена, 3 – проростки без заражения, 4 – зараженные проростки



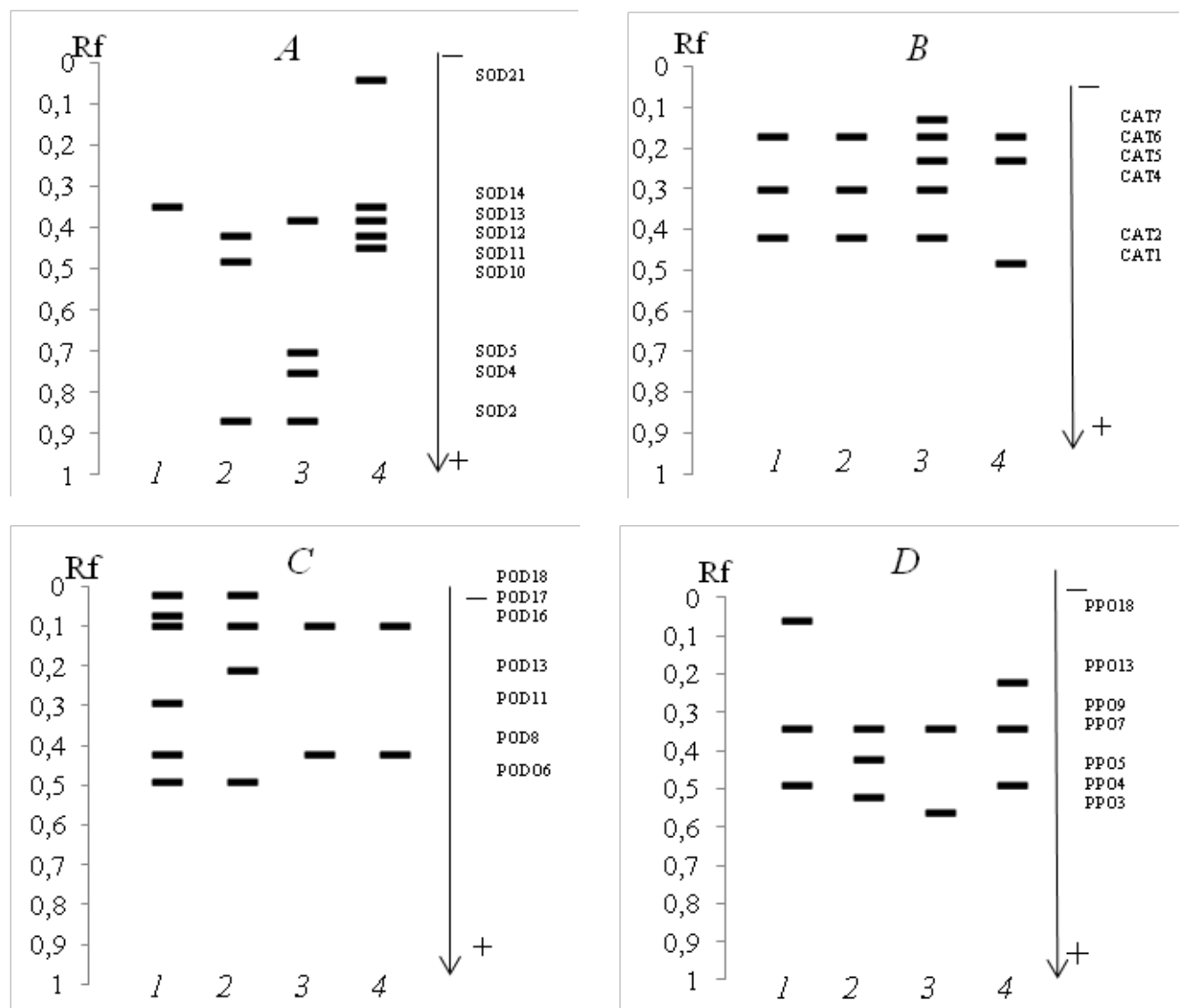


Fig. Schemes of enzyme oxidoreductases (SOD (A), CAT (B), POD (C), PPO (D)) seeds and seedlings soybean: 1 – seeds without infection, 2 – infected seeds, 3 – seedlings without infection, 4 – infected seedlings.

При анализе ферментативной активности сои следует отметить снижение удельной активности всех исследуемых энзимов группы оксидоредуктаз в процессе прорастания семян, что подтверждает ранее полученные результаты и указывает на участие этих ферментов в росте и развитии сои.

Результаты анализа показали, что при инфицировании сои исследуемым фитопатогеном заметно увеличилась удельная активность ПОД семян (с 51,0 до 57,4 ед/мг белка) и проростков (с 10,9 до 17,1 ед/мг белка) сои (таблица 3). Число МФ ПОД при этом в семенах снизилось с 6 до 4, а в проростках их количество не изменилось, но появились новые МФ ПОД16 и ПОД6 (рис. А). В проростках по отношению к семенам сои удельная активность ПОД снизилась в пять раз (с 50,9 до 10,9 ед/мг белка), а число МФ уменьшилось в три раза (с 6 до 2).

Известно, что изменение удельной активности ПФО служит индикатором достаточного накопления питательных веществ, что является важным хозяйственно-ценным показателем [13]. Видимо, поэтому в семенах сои активность ПФО была существенно выше, чем в проростках

( $A_{уд}$  в семенах варьировала от 59,6 до 69,3 ед/мг белка, а в проростках – от 1,2 до 1,3 ед/мг белка) (рис. Г).

Согласно литературным данным, расщепление пероксида водорода, образующегося в проростках сои при окислительном стрессе, обеспечивается за счет повышения гетерогенности каталаз [10]. В ходе исследования выявлена невысокая каталазная активность семян и проростков сои (диапазон составил от 0,56 до 1,19 ед/мг белка), что соответствует работам Е. А. Семеновой [1] и связано с незначительными окислительными процессами, протекающими в клетках исследуемого растения, а также высокой активностью других антиоксидантных энзимов. Так, например, для СОД получено самое большое значение активности в зараженных септориозом семенах и составляет 140 ед/мг белка, что больше на 60 % по сравнению с контролем (таблица 3). При этом в три раза увеличивалось число МФ этого фермента (рис. В). Полученные нами данные подтверждают литературные данные и показывают, что СОД играет решающую роль в снижении окислительного стресса [14, с. 70].

В проростках сои в условиях заражения грибной инфекцией удельная активность СОД незначительно уменьшилась – с 9,9 до 9,0 ед/мг белка. В то же время наблюдалось увеличение числа МФ с 4 до 5. Причем подвижность форм значительно изменилась, за исключением СОД13, которая была выявлена только в проростках сои. В незараженных семенах обнаружена всего 1 форма СОД14 с высокой удельной активностью, 3 формы каталазы (КАТ2, КАТ4 и КАТ6) с низкой суммарной удельной активностью, 6 форм пероксидаз и 3 формы полифенолоксидазы (ПФО5, ПФО9 ПФО18) с высокой суммарной удельной активностью. При инфицировании септориозом в семенах происходят качественные и количественные изменения МФ. При этом образуются 3 формы СОД с самой высокой удельной активностью.

В проростках при инфицировании удельная активность СОД, КАТ и ПФО не изменяется, при этом у СОД и ПФО возрастает число МФ, а у каталазы, наоборот, уменьшается. Для пероксидазы в условиях инфицирования возникновение новых МФ сопровождается повышением удельной активности, что показывает ее защитное действие от влияния болезни. Стабильной формой пероксидаз, обнаруженной во всех вариантах опыта, является форма ПОД16.

Для каталазы в семенах сои при влиянии септориоза произошло снижение удельной ее активности при неизменном качественном и количественном составе МФ, а в проростках наблюдается обратная закономерность, а именно число МФ уменьшилось с образованием низкомолекулярной формы КАТ1 при сохранении общей удельной активности. Самой стабильной формой является КАТ6 с низкой Rf, которая обнаружена во всех вариантах опыта.

При заражении септориозом удельная активность ПФО в семенах увеличивалась на 16 %, в то время как число МФ в них сохранилось на уровне контроля (рис. Г).

В проростках при заражении удельная активность ПФО не изменялась. Однако число МФ возрастало с 2 до 3. Полученные данные позволили выявить стабильную, устойчивую при инфицировании септориозом, низкоподвижную форму ПФО9.

Одним из важных показателей эффективности АОС является сбалансированность ферментативных активностей СОД, ПФО, КАТ и ПОД [12]. В ходе корреляционного анализа удельной активности исследуемых ферментов получена прямая зависимость в семенах для СОД, КАТ и ПОД (коэффициент корреляции равен 1,0) и обратная их зависимость в отношении ПФО (коэффициент корреляции равен –1,0). Для проростков корреляционный анализ показал прямую зависимость для СОД, КАТ и ПФО (коэффициент корреляции равен 1,0) и обратную их зависимость в отношении ПОД (коэффициент корреляции равен –1,0). Анализ удельной активности и МФ исследуемых оксидоредуктаз (СОД, КАТ, ПОД и ПФО) семян сои при заражении септориозом выявил что инактивация АФК шла за счет повышения активности СОД, ПОД и ПФО, для проростков – за счет повышения активности ПОД. Невысокие стабильные значения удельной активности ПФО и КАТ в проростках сои, вероятно, свидетельствуют о незначительном инфицировании растения септориозом.

#### Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Таким образом, впервые в условиях заражения выявлено 5 форм ПОД, 5 форм КАТ, 7 форм СОД и 5 форм ПФО. Наибольшее число форм оксидоредуктаз установлено для СОД (7), участвующей в инактивации АФК в стрессовых условиях, что подтверждено повышением концентрации МДА. Установлено, что СОД обладают высоким уровнем полиморфизма, селективным нейтральным поведением (по отношению к септориозу на сорте сои Лидия), что позволяет ее использовать в качестве молекулярного маркера.

#### Библиографический список

1. Семенова Е. А., Титова С. А. Влияние погодных условий на развитие болезней сои в южной зоне Амурской области // Проблемы экологии Верхнего Приамурья: сборник научных трудов. 2016. № 17. С. 12–23.
2. Ефремова О. С., Дега Л. А., Нодельман Е. К., Шкрыль Ю. Н. Оценка трансгенных растений сои (*Glycine max* (L.) Merr.) на устойчивость к фитопатогенам // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2016. № 4. С. 25–30.
3. Shu K., Qi Y., Chen F., Meng Y. [et. al.] Salt Stress Represses Soybean Seed Germination by Negatively Regulating GA Biosynthesis While Positively Mediating ABA Biosynthesis [e-resource] // Frontiers in Plant Science. 2017. Vol. 8. No. 1372. DOI: 10.3389/fpls.2017.01372. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/sections/plant-abiotic-stress/articles/appeal> (date: 29.04.2020).
4. Торопова Е. Ю., Шульга Т. В., Селюк М. П. Эффективность протравливания семян сои в защите от болезней // Второй международный форум «Зернобобовые культуры, развивающееся направление в России». Омск: Омский ГАУ, 2018. С. 172–175.
5. Семенова Е. А. Теоретическое и экспериментальное обоснование роли адаптации сои в повышении урожайности: дис. ... д-ра с.-х. наук. Благовещенск, 2019. 450 с.
6. Ben M'Barek S., Karisto P., Abdeyem W. [et al.] Improved control of Septoria tritici blotch in durum wheat using cultivar mixture // Cultivar mixtures for STB control. 2019. Pp. 1–23. DOI: <https://doi.org/10.1101/664078>.
7. Fones H., Gurr S. The impact of Septoria tritici Blotch disease on wheat: An EU perspective // Fungal genetics and biology. 2015. Vol. 79. Pp. 3–7. DOI: 10.1016/j.fgb.2015.04.004.
8. Batzer J., Kandel Y., Bradley C., Chilvers M., Tenuta A., Wise K., Hernandez E., Mueller D. Effect of Seed Treatment on Early Season Brown Spot Caused by Septoria glycines of Soybean // Plant Health Progress. 2016. Vol. 17. No. 4. Pp. 223–228. DOI: 10.1094/PHP-RS-16-0035.

9. Xin J., Zhao X. H., Tan Q. L., Sun X. C., Zhao Y. Y., Hu C. X. Effects of cadmium exposure on the growth, photosynthesis, and antioxidant defense system in two radish (*Raphanus sativus* L.) cultivars // *Photosynthetica*. 2019. Vol. 57 (4). Pp. 967–973. DOI: 10.32615/ps.2019.076.

10. Петухов А. С., Христинин Н. А., Кремлева Т. А., Петухова Г. А. Активность каталазы травянистых растений в условиях загрязнения городской среды // Самарский научный вестник. 2019. Т. 8. № 1 (26). С. 90–95. DOI: 10.24411/2309-4370-2019-11115.

11. Xu W., Zhang N., Zhang Z. [et al.] Effects of dietary cyanidin-3-diglucoside-5-glucoside complexes with rutin/Mg(II) against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cellular oxidative stress [e-resource] // *Food research international*. 2019. Vol. 126. № 108591. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108591. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996919304697?via%3Dihub> (appeal date: 27.04.2020).

12. Кузнецова В. А., Иваченко Л. Е., Блинова А. А., Семенова Е. А. Влияние ЭкстраКора и ЭкоЛарикса на активность пероксидаз, полифенолоксидаз и супероксиддисмутаз проростков сои, пораженных комплексом болезней // Естественные и технические науки. 2019. № 11 (137). С. 60–63. DOI: 10.25633/ETN.2019.11.04.

13. Колесникова М. В. Активность ферментов полифенолоксидазы и пероксидазы под влиянием совместной заправки соломы озимой пшеницы и штамма *Hemicolpus fuscoatra* ВНИИСС 016 // Научный альманах. 2018. № 4–3 (42). С. 200–204. DOI: 10.17117/na.2018.04.03.200.

14. Никерова К. М., Галибина Н. А., Мощенская Ю. Л., Новицкая Л. Л., Подгорная М. Н., Софронова И. Н. Ферменты антиоксидантной системы – индикаторы разных сценариев ксиллогенеза: в раннем онтогенезе и во взрослом состоянии (на примере *Betula pendula* Roth) // Труды карельского научного центра Российской академии наук. 2018. № 6. С. 68–80. DOI: 10.17076/eb787.

15. Рогожин В. В., Рогожина Т. В. Практикум по биохимии сельскохозяйственной продукции: учебное пособие для вузов. СПб.: ГИОРД, 2016. 480 с.

16. Коробко В. В., Касаткин М. Ю. Физиология растений: большой практикум. Саратов: Изд-во «Саратовский источник», 2017. 120 с.

17. Кузнецова В. А., Блинова А. А., Иваченко Л. Е., Фесенко Ю. В., Фокина Е. М. Активность супероксиддисмутазы и полифенолоксидазы семян районированных сортов сои амурской селекции // Таврический вестник аграрной науки. 2019. № 3 (19). С. 86–93. DOI: 10.33952/2542-0720-2019-3-19-86-93.

18. Коничев А. С., Цветков И. Л. [и др.] Молекулярная биология. Практикум: учебное пособие для вузов / Под редакцией А. С. Коничева. 2-е изд. М.: Юрайт, 2020. 169 с.

#### Об авторах:

Виктория Александровна Кузнецова<sup>1</sup>, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, ORCID 0000-0002-3657-4511, AuthorID 782594; +7 961 954-33-85, [kuzvika3385@yandex.ru](mailto:kuzvika3385@yandex.ru)

Анастасия Андреевна Блинова<sup>1</sup>, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, ORCID 0000-0002-7234-0595, AuthorID 1017750; +7 924 447-27-98

Ольга Николаевна Тарасова<sup>1</sup>, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, ORCID 0000-0002-5051-7695, AuthorID 1015322; +7 924 041-55-45

Любовь Егоровна Иваченко<sup>1</sup>, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии, ORCID 0000-0003-4870-2223, AuthorID 738967; +7 914 563-41-00

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт сои, Благовещенск, Россия

## Activity of oxidoreductase of seeds and soybean seedlings under conditions of fungal infection *Septoria glycines* Hemmi

V. A. Kuznetsova<sup>1</sup>✉, A. A. Blinova<sup>1</sup>, O. N. Tarasova<sup>1</sup>, L. E. Ivachenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> All-Russian Scientific Research Institute of Soybeans, Blagoveshchensk, Russia

✉E-mail: [kuzvika3385@yandex.ru](mailto:kuzvika3385@yandex.ru)

**Abstract.** The study is aimed at analyzing the oxidoreductase activity of seeds and seedlings of soybean infected with a fungal infection of *Septoria glycines* Hemmi. **Research Methods.** The object of the study was seeds collected from soybean plants (*Glycine max* (L.) Merr) of the Lydia cultivar grown on meadow chernozem-like soil of the experimental field of the All-Russian Research Institute of Soybean in s. Garden of the Amur Region in 2019. The content of malondialdehyde was determined using thiobarbituric acid. The activity of superoxide dismutase and catalase was determined spectrophotometrically, and the activity of peroxidase and polyphenol oxidase was determined by the colorimetric method. Electrophoretic spectra of the studied enzymes were detected by electrophoresis on columns of a 7.5% polyacrylamide gel. Detection on a gel of zones with enzymatic activity was carried out by appropriate histochemical methods. **Results.** As a result of studies, it was found that on the 10th day the infection of the seedlings was 8.75 %. In this case, under the influence of *Septoria glycines* Hemmi, a slowdown in growth

processes was observed, the level of malondialdehyde increased, which indicates an increase in oxidative processes. The length of seedlings infected with septoria was 2.7 % less compared to uninfected ones; the mass of infected seedlings decreased by 0.15 g. When soybean infection with *Septoria* was detected, soybean seeds and seedlings responded, expressed in a change in the specific activity of the studied enzymes and their rearrangement multiple forms. Reduction of oxidative stress in the seeds occurred due to an increase in the activity of superoxide dismutase, peroxidase and polyphenol oxidase, for seedlings – due to an increase in the activity of peroxidase only. **Scientific novelty.** It has been established that superoxide dismutase in soybean seeds has a high responsiveness to the pathogen. This is expressed in increased specific activity and significant polymorphism of the enzyme, which allows it to be used as a molecular marker for increasing soy resistance to the pathogen.

**Keywords:** Glycine max, *Septoria glycines*, specific activity, multiple forms, oxidoreductase, malondialdehyde, oxidative stress.

**For citation:** Kuznetsova V. A., Blinova A. A., Tarasova O. N., Ivachenko L. E. Aktivnost' oksidoreduktaz semyan i proroostkov soi v usloviyakh gribkovoy infektsii *Septoria glycines* Hemmi [Activity of oxidoreductase of seeds and soybean seedlings under conditions of fungal infection *Septoria glycines* Hemmi] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2020. No. 07 (198). Pp. 47–55. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-198-7-47-55. (In Russian.)

**Paper submitted:** 15.05.2020.

### Referenses

1. Semenova E. A., Titova S. A. Vliyaniye pogodnykh usloviy na razvitiye bolezney soi v yuzhnoy zone Amurskoy oblasti [The influence of weather conditions on the development of soy diseases in the southern zone of the Amur region] // Problemy ekologiy Verkhnego Priamur'ya: sbornik nauchnykh trudov. 2016. No. 17. Pp. 12–23. (In Russian.)
2. Efremova O. S., Dega L. A., Nodelman E. K., Shkryl' Yu. N. Otsenka transgennykh rasteniy soi (*Glycine max* (L.) Merr.) na ustoychivost' k fitopatogenam [Estimation of transgenic soybean plants (*Glycine max* (L.) Merr.) for resistance to phytopathogens] // Maslichnyye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur. 2016. No. 4. Pp. 25–30. (In Russian.)
3. Shu K., Qi Y., Chen F., Meng Y. [et. al.] Salt Stress Represses Soybean Seed Germination by Negatively Regulating GA Biosynthesis While Positively Mediating ABA Biosynthesis [e-resource] // Frontiers in Plant Science. 2017. Vol. 8. No. 1372. DOI: 10.3389/fpls.2017.01372. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/sections/plant-abiotic-stress/articles> (appeal date: 29.04.2020).
4. Toropova E. Yu., Shul'ga T. V., Selyuk M. P. Effektivnost' protravlivaniya semyan soi v zashchite ot bolezney [The effectiveness of soybean seed dressing in protection against diseases] // Vtoroy mezhdunarodnyy forum "Zernobobovyye kul'tury, razvivayushcheyesya napravleniye v Russia". Omsk: Omskiy GAU, 2018. Pp. 172–175. (In Russian.)
5. Semenova E. A. Teoreticheskoe i eksperimental'noe obosnovanie roli adaptatsii soi v povyshenii urozhaynosti: dis. ... d-ra s/kh nauk [Theoretical and experimental substantiation of the role of soybean adaptation in increasing productivity: dissertation ... doctor of agricultural sciences]. Blagoveshchensk, 2019. 450 p. (In Russian.)
6. Ben M'Barek S., Karisto P., Abdeyem W. [et al.] Improved control of *Septoria tritici* blotch in durum wheat using cultivar mixture // Cultivar mixtures for STB control. 2019. Pp. 1–23. DOI: <https://doi.org/10.1101/664078>.
7. Fones H., Gurr S. The impact of *Septoria tritici* Blotch disease on wheat: An EU perspective // Fungal genetics and biology. 2015. Vol. 79. Pp. 3–7. DOI: 10.1016/j.fgb.2015.04.004.
8. Batzer J., Kandel Y., Bradley C., Chilvers M., Tenuta A., Wise K., Hernandez E., Mueller D. Effect of Seed Treatment on Early Season Brown Spot Caused by *Septoria glycines* of Soybean // Plant Health Progress. 2016. Vol. 17. No. 4. Pp. 223–228. DOI: 10.1094/PHP-RS-16-0035.
9. Xin J., Zhao X. H., Tan Q. L., Sun X. C., Zhao Y. Y., Hu C. X. Effects of cadmium exposure on the growth, photosynthesis, and antioxidant defense system in two radish (*Raphanus sativus* L.) cultivars // Photosynthetica. 2019. Vol. 57 (4). Pp. 967–973. DOI: 10.32615/ps.2019.076.
10. Petukhov A. S., Khritokhin N. A., Kremleva T. A., Petukhova G. A. Aktivnost' katalazy travyanistykh rasteniy v usloviyakh zagryazneniya gorodskoy sredy [Catalase activity of herbs in conditions of urban environment pollution] // Samara Journal of Science. 2019. Vol. 8. No. 1 (26). Pp. 90–95. DOI: 10.24411/2309-4370-2019-11115. (In Russian.)
11. Xu W., Zhang N., Zhang Z. [et al.] Effects of dietary cyanidin-3-diglucoside-5-glucoside complexes with rutin/Mg(II) against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cellular oxidative stress [e-resource] // Food research international. 2019. Vol. 126. № 108591. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108591. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996919304697?via%3Dihub> (appeal date: 27.04.2020).
12. Kuznetsova V. A., Ivachenko L. E., Blinova A. A., Semenova E. A. Vliyaniye EkstraKora i EkoLariksa na aktivnost' peroksidaz, polifenoloksidaz i superoksiddismutaz proroostkov soi, porazhennykh kompleksom bolezney [The effect of ExtraCore and EkoLarix on the activity of peroxidases, polyphenol oxidases and superoxide dismutases of soybean seedlings affected by a complex of diseases] // Estestvennyye i tekhnicheskiye nauki. 2019. No. 11 (137). Pp. 60–63. DOI: 10.25633/ETN.2019.11.04. (In Russian.)
13. Kolesnikova M. V. Aktivnost' fermentov polifenoloksidazy i peroksidazy pod vliyaniem sovmestnoy zapashki solomy ozimoy pshenitsy i shtamma *Numicola fuscoatra* VNIIS 016 [The activity of enzymes polyphenol oxidase and peroxidase



under the effect of the joint plowing of straw of winter wheat and strain of *Humicola fuscoatra* VNISS 016] // Nauchnyy al'manakh. 2018. No. 4–3 (42). Pp. 200–204. DOI: 10.17117/na.2018.04.03.2002. (In Russian.)

14. Nikerova K. M., Galibina N. A., Moshchenskaya Yu. L., Novitskaya L. L., Podgornaya M. N., Sofronova I. N. Fermenty antioksidantnoy sistemy – indikatory raznykh stsenariyev ksilogeneza: v rannem ontogeneze i vo vzrosлом sostoyanii (na primere *Betula Pendula* Roth) [The antioxidant enzymes – indicators of different xylogenesis scenarios: in early ontogeny and in adult plants (example of *Betula Pendula* Roth)] // Transactions of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences. 2018. No. 6. Pp. 68–80. DOI: 10.17076/eb787. (In Russian.)

15. Rogozhin V. V., Rogozhina T. V. Praktikum po biokhimii sel'skokhozyaystvennoy produktsii: uchebnoe posobiye dlya vuzov [Workshop on biochemistry of agricultural products: textbook. manual for universities: textbook for higher education institutions]. Saint Petersburg: GIOR, 2016. 480 p. (In Russian.)

16. Korobko V. V., Kasatkin M. Yu. Fiziologiya rasteniy: bol'shoy praktikum [Plant physiology: a large workshop]. Saratov: Izd-vo "Saratovskiy istochnik", 2017. 120 p. (In Russian.)

17. Kuznetsova V. A., Blinova A. A., Ivachenko L. E., Fesenko Yu. V., Fokina E. M. Aktivnost' superoksiddismutazy i polifenoloksidazy semyan rayonirovannykh sortov soi amurskoy selektsii [The activity of superoxide dismutase and polyphenol oxidase seeds of zoned varieties of soybean Amur breeding] // Tavricheskiy vestnik agrarnoy nauki. 2019. No. 3 (19). Pp. 86–93. DOI: 10.33952/2542-0720-2019-3-19-86-93. (In Russian.)

18. Konichev A. S., Tsvetkov I. L. [et al.] Molekulyarnaya biologiya. Praktikum: uchebnoye posobiye dlya vuzov [Molecular biology. Workshop: textbook for higher education institutions] / Edited by A. S. Konichev. 2nd edition. Moscow: Yurayt, 2020. 169 p. (In Russian.)

#### Authors' information:

Victoria A. Kuznetsova<sup>1</sup>, senior researcher of biotechnology laboratory, ORCID 0000-0002-3657-4511, AuthorID 782594; +7 961 954-33-85, [kuzvika3385@yandex.ru](mailto:kuzvika3385@yandex.ru)

Anastasia A. Blinova<sup>1</sup>, junior researcher of biotechnology laboratory, ORCID 0000-0002-7234-0595, AuthorID 1017750; +7 924 447-27-98

Olga N. Tarasova<sup>1</sup>, junior researcher of biotechnology laboratory, ORCID 0000-0002-5051-7695, AuthorID 1015322; +7 924 041-55-45

Lyubov E. Ivachenko<sup>1</sup>, doctor of biological sciences, leading researcher of biotechnology laboratory, ORCID 0000-0003-4870-2223, AuthorID 738967; +7 914 563-41-00

<sup>1</sup> All-Russian Scientific Research Institute of Soybeans, Blagoveshchensk, Russia