

УДК 633.311:581.19.036.5

## ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФИТОГОРМОНОВ, ФЛАВОНОИДОВ И ВОДОРАСТВОРИМЫХ САХАРОВ У ЛЮЦЕРНЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЗАКАЛИВАЮЩИХ ТЕМПЕРАТУР

Н. Н. ТРЕТЬЯКОВ, И. С. БОНДАРЬ, Б. Е. БУМАЖНЫЙ, В. В. ГОМЕР

(Кафедра физиологии растений)

В статье впервые приводятся данные о динамике процентного содержания и количества АБК, ГК и флавоноидов в растениях люцерны в фазе 5—6 настоящих листьев при действии на них закаливающих и промораживающих температур. Делается попытка объяснить изменение содержания и количества гормональных и негормональных регуляторов роста в процессе эксперимента не только их синтезом или гидролизом, но и перераспределением между частями растения (надземной частью и корневой шейкой). Предлагается метод диагностирования морозостойкости различных сортов люцерны по содержанию АБК и ГК в растениях после промораживания при  $-5^{\circ}\text{C}$ . Изучены корреляционные связи между морозостойкостью, содержанием гормонов, флавоноидов и водорастворимых сахаров.

Среди многолетних кормовых трав наибольшие известность и распространение в мировом земледелии получила люцерна, поскольку эта культура отличается высокой продуктивностью, повышенным содержанием протеина в зеленой массе, способностью давать высокие урожаи сена без больших затрат минеральных удобрений [3], а также долголетием [11, 12]. Включение в рацион скота кормов из зеленой массы люцерны поз-

воляет в значительной мере сократить дефицит белка, многих незаменимых аминокислот, витаминов и минеральных веществ [2]. Вместе с тем в Нечерноземной зоне России посевы люцерны все еще занимают относительно небольшие площади. Основным препятствием для ее широкого возделывания в этом регионе являются низкие температуры и особенности зимнего периода.

Зимостойкость травостоя люцер-

ны во многом зависит от сорта, уровня экстремальных факторов, подготовки растений к перезимовке.

Известно, что у многолетних растений вырабатывается устойчивость к осенне-зимним стрессовым условиям, выражающаяся в закладке зимующих почек на корневой шейке, в изменении физиолого-биохимических процессов, связанных с дыханием, фотосинтезом, азотным, углеводным и гормональным балансом.

Торможение роста под влиянием низких положительных температур — одно из обязательных условий развития морозостойкости и зимостойкости. В результате определенных изменений метаболизма, накопления защитных веществ совершается перевод организма в новое физиологическое состояние, которое И. И. Туманов определил как «морозостойкое» в отличие от «вегетирующего». Ученый рассматривает явление закаливания как переходный этап между этими состояниями. Преадаптация к низким температурам наступает раньше действия закаливающих температур, а у морозостойких сортов уже при незначительном снижении температуры [16, 17].

Способность растительного организма адаптироваться к ритму внешних и внутренних факторов в значительной степени зависит от баланса естественных регуляторов роста — фитогормонов. Кратковременное стрессовое воздействие ведет к нарушению гормонального аппарата, что выражается в нарушении роста и фотосинтеза. Одной из первых реакций растения на стрессовое воздействие является резкий выброс «суперпродукции» абсцисовой кислоты (АБК) [8]. После кратковременных стрессовых реакций наступают модификационные изменения, которые проявляются в виде реакций на не-

благоприятные факторы; гормоны подключаются к регуляции длительно протекающих процессов роста и покоя [5, 17]. Под действием неблагоприятных факторов тормозится синтез стимуляторов и накапливаются ингибиторы роста, после чего следует переключение на покой. Стрессовое состояние растений позволяет проявиться таким специфическим механизмам, как морозо- и засухоустойчивость. Имеются данные [6, 8] о роли флавоноидов в адаптации растительного организма к неблагоприятным условиям среды. Однако общей системы гормональных характеристик устойчивых и неустойчивых типов растений пока еще нет. Можно предположить, что у последних при стрессе незначительно тормозится рост и меняется уровень гормонов. У устойчивых типов этот процесс более быстрый: рост сменяется покоем и резко возрастает количество ингибиторов [8].

Все регуляторные соединения гормонального типа возникают из аминокислот (ИУК, этилен) или органических кислот (АБК, ЦТК, ГК). Существенно, что и негормональные регуляторы — фенольные ингибиторы и стимуляторы — образуются из аминокислот. Общие метаболиты — предшественники типа хорезмовой или мевалоновой кислот — являются своеобразными ключевыми соединениями, от которых идут биосинтетические ветви, участвующие в образовании стимуляторов или ингибиторов [4, 6—8].

Физиологически активные вещества люцерны практически не изучены. В связи с этим для решения проблемы повышения ее зимостойкости представляет интерес проследить изменение баланса некоторых фитогормонов, флавоноидов и водорастворимых сахаров

люцерны в процессе ее закалки и промораживания.

В проводимых ранее на кафедре физиологии растений Тимирязевской академии исследованиях влияния закалывающих и промораживающих температур на люцерну и клевер была выявлена определенная зависимость между закалкой и промораживанием, с одной стороны, и различными физиологическими процессами — фотосинтезом, дыханием, азотным обменом, накоплением протекторных веществ — с другой [13—15]. В этом нашем сообщении рассматриваются новые результаты работ по данной проблеме.

### Методика

Изучали 2 разных по морозостойкости сорта люцерны изменчивой (*Medicago varia*): более зимостойкий Вега селекции Института кормов им. В. Р. Вильямса и менее зимостойкий — Славянская местная краснодарской селекции.

Опыт был заложен в теплице лаборатории кафедры селекции и семеноводства полевых культур и на базе лаборатории биофизики академии. Люцерну выращивали в водной культуре на 0,5 н. питательной смеси Кнопа в литровых стеклянных сосудах по 7 растений в каждом. Световой период 16 ч в сутки, облученность 70 Вт ФАР на 1 м<sup>2</sup> (лампы ДРЛИ-250). Повторность опытов 4-кратная. В 1989 и 1990 гг. было проведено 3 вегетационных опыта, давших сходные результаты, поэтому здесь проводится анализ данных третьего эксперимента, как наиболее типичного.

До закалывания растения выращивали при температуре 20 °С. На 21-й день после всходов при появлении 5—6 настоящих листьев

их переводили на режим закалывания (рис. 1) в климатической установке ИЛКА. В первую фазу закалывания, продолжающуюся 5 сут, растения выдерживали на свету при температуре 2 °С, во вторую — в течение 3 сут в темноте при —3 °С, переход между I и II фазами длился сутки [17]. Условия закалывания моделировали во времени смену температуры и освещенности в осенний период. В последующем проводили промораживание растений последовательно в течение суток при температуре —5, —7, —9 °С и отрицали в течение 15 сут после каждого промораживания. Данные по отращиванию в статье не приводятся.

Содержание фитогормонов, флавоноидов и водорастворимых сахаров определяли в корневой шейке и побегах, черешках и листовых пластинках в следующие сроки: 1-й — до закалывания в фазу 5—6 настоящих листьев, 2-й и 3-й — после I и II фаз закалывания, 4, 5 и 6-й — после промораживания при температурах —5, —7 и —9 °С.

Корневой шейке принадлежит исключительно важная роль при весеннем возобновлении побего- и корнеобразования. Располагается она в верхней части корня, образуется из подсемядольного колена и является разросшейся частью главного стебля. Для анализа использовалась 4-сантиметровая ее зона от начала корня, поскольку именно здесь вероятность закладки почек возобновления наибольшая.

Анализируемый образец составлялся из 10 растений каждого варианта, повторность 2-кратная.

Содержание АБК определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), разработанным в лаборатории регуляторов роста Тимирязевской ака-

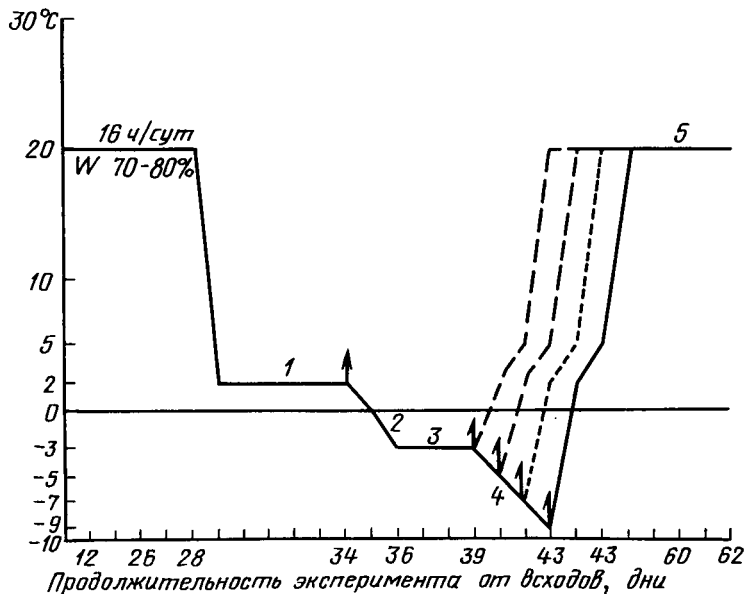


Рис. 1. Режимы закаливания, промораживания и репарации растений люцерны. 1—I фаза закаливания (круглосуточное освещение); 2 — переходная фаза (круглосуточное освещение); 3—II фаза закаливания (в темноте); 4 — промораживание (в темноте); 5 — отращивание (фотопериод 16 ч/сут); стрелкой указаны сроки отбора образцов для анализа.

демии [1]. Для этого лиофилизированный или свежесрезанный образец экстрагировали метанолом в соотношении 1:5 (масса образца:объем метанола) в течение недели, затем фильтровали и упаривали до водной фазы (2—4 мл) на роторном испарителе. Последующую очистку проводили в устройстве для вакуумной хроматографии Vac Elut фирмы «Analytichem International» (Англия) с 10 малыми колонками (внутренние размеры 0,9×6 см), содержащими и предварительно промытыми 2 мл буферного раствора ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$  — 1,5 г,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 2 г,  $\text{H}_2\text{O}$  — 100 мл, pH — 5,9) по 0,2 г поливинилпирролидона (ПВП). Одновременно проводилось очищение

4 образцов в 2 повторностях по 0,1 мл в каждой колонке. В 2 оставшиеся колонки вносили по 100 мкл стандартного раствора АБК (100 мкг). Колонки с образцами последовательно промывали 2,5 мл указанного буферного раствора (частями по 0,5 мл), элюат собирали и подкисляли 120 мкл раствора винной кислоты (10 г винной кислоты в 25 мл воды), добавляли по 1 мл этилацетата и после встряхивания в течение 15 мин и центрифугирования в течение 2 мин при 2000 об/мин отбирали этилацетатную фракцию, упаривали растворитель и растворяли остаток в 200 мкл подвижной фазы для ВЭЖХ. Применялось оборудование для жидкостной

хроматографии высокого давления фирмы «Biotronik» ФРГ (насос ВТ 3020, УФ-детектор ВТ 3030). Образцы, растворенные в подвижной фазе, анализировали на колонке 4,6×100 мм Vitropak фирмы LKB (Швеция), заполненной сорбентом Shperisorb ODS-2 (размер частиц 3 мкм). Скорость подвижной фазы вода — этилацетат — метанол — уксусная кислота — 250 — 15 — 12 — 4 — составляла 1,6 мл/мин. Для количественного определения АБК (время выхода в описанных условиях 13 мин) детектор настраивали на длину волны 260 нм и полученные в образцах пики сравнивали по высоте с таковыми в стандартах. Идентичность АБК, определенной по данной методике в растительных образцах, стандартной подтверждена также методом хромато-масс-спектрометрии.

Для определения содержания ГК использовали методику ИФР [9], водорастворимых углеводов — метод Дюбойса [10], флавоноидов — спектрофотометрический (430 нм) по реакции  $AlCl_3$ . В последнем случае бр ли 1 % раствор  $AlCl_3$  в 96 % этаноле, а для калибровочной кривой — различные молярные концентрации рутин [19].

Математическая обработка результатов проводилась статистическим методом Б. А. Доспехова. При анализе графического материала во внимание принималось значение НСР<sub>05</sub>.

## Результаты

Перед закаливанием (рис. 2) содержание АБК было достоверно выше во всех растительных образцах у морозоустойчивого сорта Вега, что, видимо, относится к генетическим особенностям сорта, произрастающего в условиях более экстремальных, чем сорт Славян-

ская местная краснодарской селекции.

После I фазы закаливания (2-й срок определения) у растений сорта Вега содержание АБК в надземной части возросло с 3 до 5 мкг на 1 г сухого вещества, а в корневой шейке снизилось с 5,7 до 1,7 мкг/г, у Славянской местной изменения этого показателя были противоположными, т. е. в надземной части его значения снизились с 2,26 до 1,5, а в корневой шейке повысились с 3,2 до 5,3 мкг/г, что может быть следствием перераспределения фитогормона, его синтеза или разрушения. Из приведенных данных видно, что у сорта Вега содержание АБК в надземной части увеличилось в меньшей степени, чем уменьшилось в корневой шейке, а у Славянской местной это соотношение сохранилось. Возможно, воздействие низкой положительной температуры 2 °С снизило биосинтез АБК у более устойчивого сорта Вега через понижение интенсивности фотосинтеза и дыхания, составляющих исходный материал для воспроизведения гормона, сведения о чем имеются в литературе [13—15].

Содержание ГК в корневой шейке и надземной части растений сорта Вега во 2-й срок анализа не изменилось, у сорта Славянская изменения содержания АБК и ГК имели противоположный характер, что отмечалось практически на протяжении всего эксперимента. У Веги подобной связи не наблюдалось.

Содержание флавоноидов у обоих сортов после I фазы закаливания уменьшилось в корневой шейке у сорта Вега в 3,5 раза, у Славянской — в 1,6 раза, а в надземной части — соответственно увеличилось в 6 раз и 1,2 раза, т. е. у более устойчивого сорта

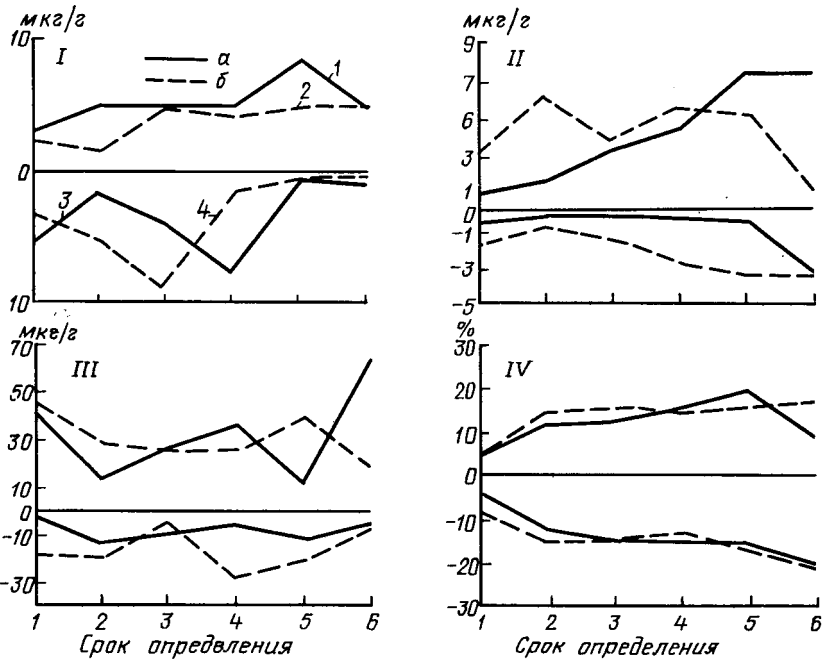


Рис. 2. Содержание АБК (I), ГК (II), флавоноидов (III) и водорастворимых сахаров (IV) в корневой шейке (под линией 0) и надземной части растений люцерны сортов Вега (а) и Славянская местная (б).

1 — перед закаливанием; 2 и 3—I и II фазы закаливания; 4, 5 и 6 — промораживание при  $-5$ ,  $-7$  и  $-9$  °С.

содержание флавоноидов изменялось более интенсивно в обе стороны. Это, очевидно, можно рассматривать как реакцию, обуславливающую ингибирование ростовых процессов и адаптацию к стрессу.

Содержание водорастворимых сахаров у растений обоих сортов в надземной части и корневой шейке во 2-й срок определения резко увеличилось. При этом в надземной части интенсивность накопления водорастворимых сахаров была у сортов одинаковой, а в корневой шейке у Славянки она оказалась меньше, но благодаря бо-

лее высокому исходному содержанию водорастворимых сахаров у нее в данной зоне значения этого показателя после I фазы закаливания сравнялись у обоих сортов. Это свидетельствует о выравнивании процессов как биосинтеза, так и гидролиза сахаров у различных по морозоустойчивости сортов люцерны на ранних стадиях закаливания в условиях круглосуточного освещения и низкой положительной температуры.

После II фазы закаливания (3-й срок определения) содержание ГК и водорастворимых сахаров не изменилось у расте-

ний изучаемых сортов как в надземной части, так и в корневой шейке. Содержание АБК в большинстве случаев или увеличивалось в корневой шейке у обоих сортов и в надземной части у сорта Славянская, или оставалось без изменений в надземной части у сорта Вега. Содержание флавоноидов в корневой шейке уменьшилось у растений обоих сортов, в надземной части тоже снизилось у сорта Славянская, а возросло у Веги. Последнее можно объяснить, видимо, относительно меньшей светозависимостью синтеза флавоноидов у морозостойкого сорта.

После заделки в течение I и II фаз у сорта Вега содержание АБК в надземной части возросло с 3 до 5 мкг/г (или в 1,6 раза), в корневой шейке снизилось с 5,7 до 4 мкг/г по сравнению с исходным. У растений сорта Славянская местная в надземной части и корневой шейке содержание АБК возросло соответственно с 2,3 до 4,8 (т. е. в 2 раза) и с 3,4 до 8,7 (почти в 3 раза). Содержание ГК к концу заделки в частях растений сортов люцерны практически не изменилось. Содержание флавоноидов в надземной части обоих сортов существенно уменьшилось (почти в 2 раза), а в корневой шейке у растений сорта Вега значительно возросло, у сорта Славянская — существенно снизилось. К концу заделки для растений обоих сортов содержание водорастворимых сахаров в надземной части было в пределах 12,5—15,5 %, а в корневой шейке — 14,5—15 %, т. е. практически одного порядка.

Приведенные данные выявляют сложный характер изменения содержания АБК, ГК, флавоноидов и водорастворимых сахаров под действием закалывающих факторов — изменения температуры и ос-

вещности, различия в динамике этих веществ в разных частях растений, сортовые особенности этих процессов. Так, I фаза закалывания при круглосуточном освещении сопровождалась увеличением содержания АБК в корневой шейке растений сорта Славянская. Здесь, возможно, действовал синергетический эффект закалывания в данных условиях. У корневой шейки сорта Вега эффект постоянного закалывания проявился позднее, о чем свидетельствует смещение пика содержания АБК вправо (рис. 2) относительно пика содержания АБК у растений сорта Славянская. Можно предположить, что у последних системы предупреждения стресса оказались более мобильными, обеспечивающими своевременное включение защитных реакций.

Последующие понижения температуры с  $-3^{\circ}\text{C}$  ступенчато до уровней  $-5$ ,  $-7$ ,  $-9^{\circ}\text{C}$  вызвали в корневой шейке обоих сортов резкое снижение содержания АБК, причем у люцерны сорта Славянская оно началось уже после закалывания при  $-3^{\circ}\text{C}$ , а у Веги — только при  $-5^{\circ}\text{C}$  и было особенно интенсивным при  $-7^{\circ}\text{C}$  (с 7,6 до 0,73 мкг/г). Уровни содержания АБК в корневой шейке при температурах промораживания  $-7$  и  $-9^{\circ}\text{C}$  выравнились у обоих сортов. В надземной части, где после закалывания произошла нивелировка сортовых различий по этому показателю, при дальнейшем ступенчатом снижении температуры сначала они вновь существенно увеличились, а на последней фазе промораживания — сгладились главным образом за счет резкого падения содержания АБК в надземной части растений сорта Вега.

Следует отметить, что в надземной части при  $-7^{\circ}\text{C}$  практически все изучаемые показатели

несколько снижались. Можно предположить, что в этой фазе эксперимента здесь наступает критический момент, когда нарушаются процессы, обеспечивающие поддержание жизнедеятельности.

Изменение содержания исследуемых веществ являлось результатом их синтеза или гидролиза, связывания или высвобождения из конъюгированных форм, а также перераспределения между надземной частью и корневой шейкой.

Рассмотрим ход изменения этих веществ в надземной части растений. Содержание АБК у сорта Вега увеличилось до температуры  $-7^{\circ}\text{C}$ , а при температуре  $-9^{\circ}\text{C}$  было таким же, как у сорта Славянская. У обоих сортов при окончании опыта оно оставалось более высоким по сравнению с исходным. Содержание флавоноидов при режиме  $-9^{\circ}\text{C}$  у сорта Вега в 3 раза превышало этот показатель у другого сорта. Сортовые различия в содержании ГК наблюдались до 3-го срока определения, затем произошло их нивелирование, но при  $-9^{\circ}\text{C}$  вновь отмечалось существенное их увеличение главным образом за счет различной реакции сортов на эту температуру промораживания: у сорта Вега содержание ГК повысилось с 3,2 до 7 мкг/г, у Славянской снизилось с 3,5 до 1 мкг/г. Содержание водорастворимых сахаров в надземной части растений обоих сортов к концу промораживания превышало исходный уровень и было выше у люцерны Славянской, поскольку на последней фазе эксперимента у сорта Вега оно начало снижаться.

Для проявления физиологического эффекта важно не только процентное содержание фитогормонов в том или ином органе растения, но и общее их количество, а так-

же распределение в пределах конкретного органа.

Как видно из сравнения рис. 2 и 3, основные тенденции изменения количества и процентного содержания этих веществ были сходными. Следует обратить внимание на тот факт, что количество ГК и флавоноидов в надземной части и корневой шейке до закалки и в течение всего эксперимента у сорта Славянская было существенно выше, чем у сорта Вега. Количество же АБК и водорастворимых сахаров было исходно одинаковым в анализируемых органах обоих сортов, а в ходе эксперимента менялось аналогично изменению содержания этих веществ.

Во 2-й срок определения количеств АБК в надземной части приблизительно в 2 раза превышало его количество в корневой шейке у обоих сортов. То же можно сказать и о количестве ГК, но в этом случае соотношение ГК у обоих сортов было различным: у Веги в надземной части до закаливания находилось в 2,5 раза больше ГК, а у Славянской в 4 раза, что полностью согласуется с интенсивным ростом надземной части у последней, сухая масса которой в начале опыта составляла в расчете на одно растение 88,4 мг, а у сорта Вега — 54,3 мг. Аналогичная картина выявлена и для количества флавоноидов до закаливания, при этом между корневой шейкой и надземной частью разрыв составлял 30 и 60 раз соответственно у сортов Вега и Славянская местная.

К концу периода закалки количество АБК в надземной части и корневой шейке существенно повышалось, особенно у сорта Славянская. Количество флавоноидов у сорта Вега практически не изменилось в надземной части и возросло в корневой шейке, а у Сла-



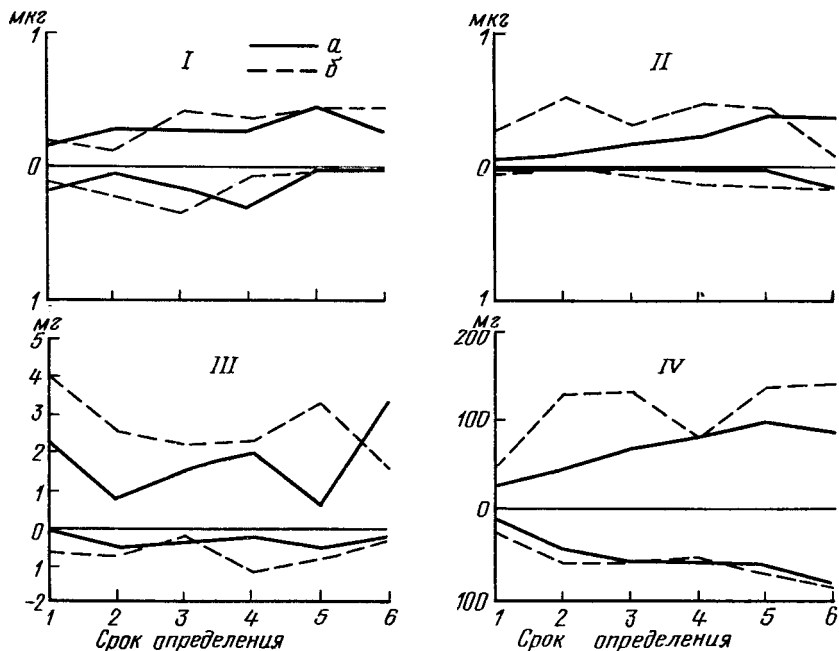


Рис. 3. Количество АБК, ГК, флавоноидов и водорастворимых сахаров у люцерны. Обозначения те же, что на рис. 1.

вянской другого оно снизилось в обеих частях. Количество ГК в надземной части растений того и другого сорта несколько возросло и было, как отмечалось ранее, выше у сорта Славянская благодаря лучшему развитию надземной части, в корневой шейке оно осталось практически без изменений.

Отмеченные особенности в количественном распределении по органам растений ингибиторов и гормонов, очевидно, повлияли на количественное распределение протекторных веществ люцерны. Так, количество водорастворимых сахаров к концу закалки возросло в надземной части у сорта Вега с 26 до 70 мг, у Славянской —

с 44 до 134 мг, в корневой шейке — соответственно с 11 до 57 и с 27 до 61, т. е., если в надземной части темпы изменения количества сахаров у обоих сортов сохранялись на одном уровне, то в корневой шейке прирост их был выше у более устойчивого сорта Вега.

К концу эксперимента в надземной части количество АБК не изменилось по сравнению с периодом закалки, а в корневой шейке оно понизилось у Вега в 5 раз, у Славянской — в 60 раз, что свидетельствует о более спокойной реакции сорта Вега на стресс. Количество флавоноидов в надземной части и корневой шейке

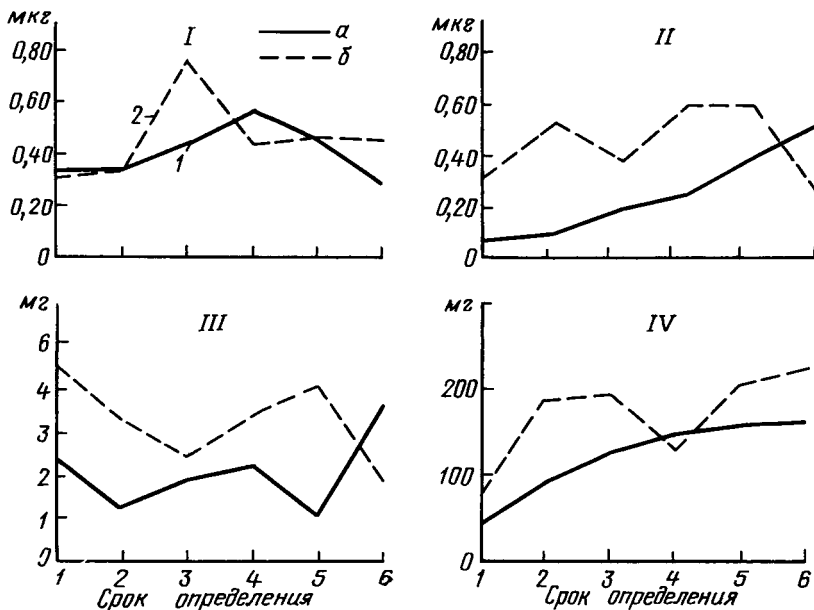


Рис. 4. Суммарное количество АБК, ГК, флавоноидов и водорастворимых сахаров в растениях люцерны. Обозначения те же, что на рис. 1.

изменялось в это время противоположно изменению количества АБК, а именно: возросло у сорта Вега в надземной части, а у Славянской осталось без изменений. Отмечено существенное увеличение количества ГК в надземной части у Веги и уменьшение у Славянской главным образом в период снижения температур с  $-7$  до  $-9$  °С. Вместе с тем в корневой шейке оно существенно повысилось у обоих сортов, причем лишь на последнем этапе промораживания. Количество водорастворимых сахаров в период промораживания возросло, особенно в корневой шейке.

При проведенном после промора-

живания отращивании люцерны наблюдалась полная гибель подземной части растений, что согласуется с повышенными содержанием ГК в надземной части — до 7 мг/г и общим их количеством у люцерны изучаемых сортов до 0,6 мг. Суммарное количество ГК (рис. 4) у более морозостойкого сорта было существенно ниже в большинстве сроков проведения анализов, кроме последнего. Суммарное количество АБК, ГК, водорастворимых сахаров и флавоноидов было более устойчивым в течение эксперимента также у сорта Вега.

Интерес представляет сопоставление относительного распре-

ления изучаемых веществ между надземной частью и корневой шейкой (рис. 5).

Как общую закономерность следует отметить снижение доли корневой шейки в балансе АБК и ее увеличение в балансе ГК в течение эксперимента. Относительное распределение водорастворимых сахаров по органам практически не изменялось во время проведения опыта. Не выявлено четкой закономерности в изменении доли флавоноидов по срокам определения.

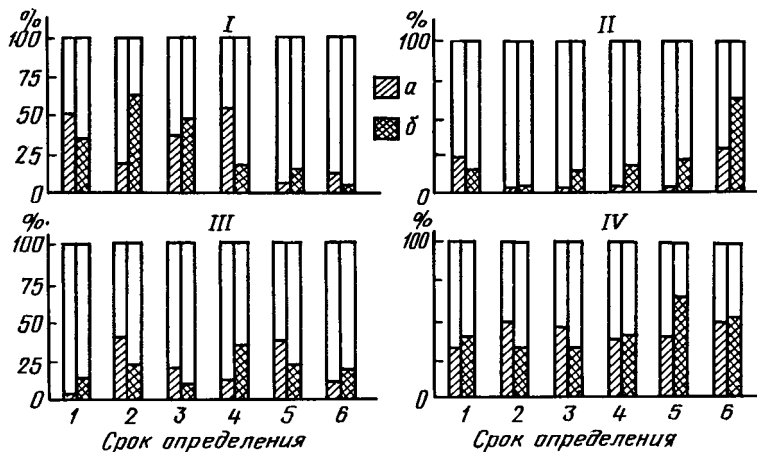
Проведенные исследования и расчеты свидетельствуют о значительной сложности адаптивных физиологических процессов у люцерны, их специфике по органам растения. В эксперименте выявлено большое, а в ряде случаев и многократное увеличение или уменьшение

содержания фитогормонов, флавоноидов за небольшие интервалы времени, что указывает на лабильность соответствующих систем биосинтеза, гидролиза или инактивации ФАВ, а может быть, их транспорта в растении (между корневой шейкой и надземной частью).

Отмечены сортовые особенности люцерны в реакции на световой и температурный режимы. Различные реакции сортов Вега и Славянская местная на непрерывное освещение могут быть объяснены их разной фотопериодической чувствительностью. У сорта Вега, как более длинноплевого, увеличивалось на свету содержание АБК в надземной части и снижалось в корневой шейке, а у Славянской местной его изменения были противоположными. Возможно, в этих условиях у сорта Вега включение

Рис. 5. Относительное распределение АБК, ГК, флавоноидов и водорастворимых сахаров по частям растений люцерны.

Штриховкой отмечена доля корневой шейки. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.



адаптивных реакций в корневой шейке происходило с запаздыванием. В «темный» период характер изменения содержания АБК у сортов был однотипным, а различия — количественными. Адаптивные процессы в растениях имели место при низких положительных и отрицательных температурах: у сорта Славянская до  $-5^{\circ}\text{C}$ , а у Веги — до  $-7^{\circ}\text{C}$ .

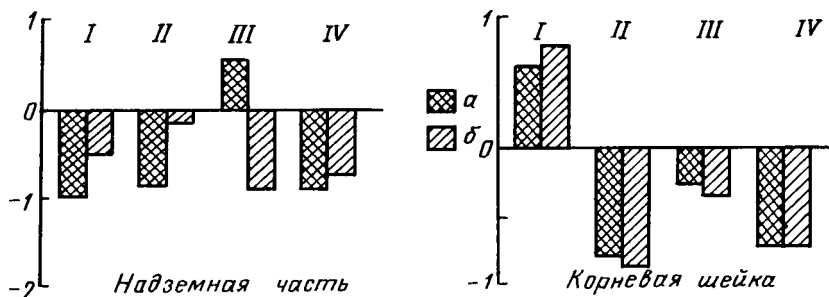
Доказательством транспорта АБК, ГК между корневой шейкой и надземной частью является изменение их процентного соотношения в период глубокого промораживания ( $-5...-9^{\circ}\text{C}$ ): в корневой шейке содержание ГК увеличивалось, а АБК — снижалось.

Важно отметить также общее для сортов значительное изменение содержания всех изучаемых веществ, особенно в корневой шейке, в интервале температур  $-7...-9^{\circ}\text{C}$ . В корневой шейке у сорта Вега резко снижалось содержание АБК, в 8 раз увеличивалось количество ГК и существенно снижалось содержание флавоноидов, что свидетельствует о готовности растений в последующем к выходу

из состояния вынужденного покоя. Это явление отмечено и другими исследователями [18].

Расчет корреляционных связей (рис. 6) выявил самую высокую корреляционную зависимость между выживаемостью растений после промораживания и отрицания и содержанием ГК и водорастворимых сахаров в корневой шейке, причем отрицательную у Веги и Славянской — соответственно  $r = -0,8 \div -0,88$  и  $r = -0,74$ . Для содержания АБК установлена положительная корреляционная зависимость для Веги ( $r = 0,62$ ) и более сильная ( $r = 0,78$ ) для Славянской. Корреляционная зависимость между содержанием изучаемых веществ в надземной части и выживаемостью была практически одного порядка и носила отрицательный характер. Выявлены положительная корреляционная зависимость между суммарным количеством АБК и выживаемостью ( $r = 0,58$ ) у сорта Славянская и ее отсутствие у Веги. Для остальных соединений, за исключением суммарного количества флавоноидов, сохранилась тенденция, наблюда-

Рис. 6. Коэффициенты корреляции содержания АБК, ГК, флавоноидов и водорастворимых сахаров с морозостойкостью растений люцерны. Обозначения те же, что на рис. 1.



мая в случае корневой шейки. Между выживаемостью и количеством флавоноидов связь была высокой и положительной у обоих сортов.

Наличие достаточно тесных связей между изучаемыми соединениями и зимостойкостью позволяет рекомендовать сроки для проведения диагностических определений последней у люцерны. Видимо, таким критерием для прогноза выживаемости может быть повышенное содержание АБК или ГК в корневой шейке при промораживании до  $-5^{\circ}\text{C}$ , поскольку между их содержанием и морозостойкостью имеется достаточно высокая положительная корреляция в первом случае и высокая отрицательная во втором. Так, содержание АБК в эту фазу эксперимента составило у более морозостойкого сорта Вега 7,6, Славянской местной — 1,6 мкг/г, а содержание ГК — соответственно 0,35 и 2,66 мкг/г.

Однако такое утверждение, чтобы стать рекомендацией, требует дополнительных исследований с использованием более широкого набора сортов и установления сорта-тестора.

Корреляционный анализ выявил наличие связей между изучаемыми соединениями, что подтверждает взаимосвязь их метаболизма в растениях. Так, в корневой шейке и надземной части обоих сортов

существует сильная отрицательная зависимость между содержанием ГК и сахаров ( $r = -0,7 \div -0,84$ ). Наибольшее количество сильных корреляций между изучаемыми веществами выявлено у растений сорта Славянская местная, причем между АБК, флавоноидами, сахарами — отрицательная, АБК и ГК, ГК и флавоноидами, сахарами и флавоноидами — положительная в надземной части и между АБК, флавоноидами и сахарами, ГК и флавоноидами, сахарами и флавоноидами — в корневой шейке.

Анализ полученных материалов (таблица) показывает, что исследуемые сорта люцерны, особенно сорта Славянская местная, недостаточно устойчивы к действию промораживания. Так, из 10 опытных растений сорта Вега после промораживания в морозильной камере до  $-9^{\circ}\text{C}$  осталось в живых 8, а сорта Славянская — только 2, и именно у неустойчивого сорта был менее благоприятный баланс гормонов и протекторных веществ.

Представляется возможным повышение морозоустойчивости люцерны путем обработки растений (семян) регуляторами роста.

## Выводы

1. Впервые получены данные о динамике процентного содержания и количества АБК, ГК и флавоноидов у люцерны в фазе 5—6

Морозоустойчивость сортов при промораживании от  $-3$  до  $-9^{\circ}\text{C}$  в морозильных камерах ( $n = 10$ )

Сорт	$-3^{\circ}\text{C}$		$-5^{\circ}\text{C}$		$-7^{\circ}\text{C}$		$-9^{\circ}\text{C}$	
	живых	%	живых	%	живых	%	живых	%
Вега	10	100	10	100	10	100	8	80
Славянская местная	10	100	10	100	5	50	2	20

настоящих листьев в процессе «закалки» и промораживания. В отдельные фазы эксперимента содержание АБК изменялось в корневой шейке от 0,18 до 8,7 мкг на 1 г сухого вещества, ГК — от 0,14 до 3,5 мкг/г, флавоноидов — от 2,3 до 27,7 мг/г, в надземной части — соответственно от 1,5 до 8,5, от 1,0 до 7,4 мкг/г, от 12 до 63,4 мг/г.

2. В процессе «закалки» изменяется не только содержание и количество гормонов в растениях, но и соотношение их в надземной части и корневой шейке, что объясняется их синтезом или гидролизом, а также, очевидно, перемещением между частями растения.

3. Контроль за содержанием АБК и ГК в период промораживания при  $-5^{\circ}\text{C}$  позволяет диагностировать морозостойкость люцерны. У более морозостойкого сорта Вега содержание АБК составляло в эту фазу промораживания 7,6 мкг/г, т. е. было на 79 % больше, чем у сорта Славянская местная, у которой, в свою очередь, оказалось более высоким содержание ГК — 2,66 мкг/г, или на 84 % было выше, чем у сорта Вега.

4. Между морозостойкостью растений и содержанием АБК у обоих сортов в период закаливания и промораживания существует положительная корреляционная зависимость: у растений сорта Вега  $r=0,62$ , а у Славянской местной  $r=0,71$ . Между морозостойкостью и содержанием ГК обнаружена отрицательная корреляционная зависимость: соответственно по сортам  $r=-0,84$  и  $r=-0,74$ .

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бумажный Б. Е., Блиновский И. К., Соркина Г. Л. Определение абсцизовой

кислоты в растениях яблони и зерновых методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.— В кн.: Регуляторы роста. М.: Агропромиздат, 1990.— 2. Жаренов В. И., Клюй В. С. Люцерна.— Киев: Урожай, 1983.— 3. Иванов А. И. Люцерна.— М.: Колос, 1974.— 4. Кефели В. И. Природные ингибиторы роста и фитогормоны.— М.: Наука, 1974.— 5. Кефели В. И. Рост растений и природные регуляторы. Физиология растений, 1978, т. 25, вып. 5, с. 975—988.— 6. Кефели В. И., Запретнов М. Н. Проблемы биологической активности продуктов вторичного обмена и регуляция их метаболизма.— Успехи современной биологии, 1979, т. 87, вып. 3, с. 474.— 7. Кефели В. И. Витамины и другие представители негормональных регуляторов роста растений.— Прикл. биохимия и микробиология, 1981, т. 1, с. 1—14.— 8. Кефели В. И. Фотоморфогенез, фотосинтез и рост как основа продуктивности растений.— Пушино, ОНТИ ПНЦ АН СССР, 1991.— 9. Ложникова В. Н., Хлопенкова Л. П., Чайлахян М. Х. Определение природных гиббереллинов в растительных тканях.— В кн.: Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, дефолиантов и гербицидов. М.: Наука, 1973, с. 160.— 10. Пешков Б. П. Практикум по биохимии растений.— М.: Наука, 1976.— 11. Тарковский М. И. Люцерна.— М.: Колос, 1974.— 12. Тарковский М. И., Константинова А. М. Люцерна в Нечерноземной зоне.— М.: Сельхозгиз, 1951.— 13. Третьяков Н. Н., Гомер В. В. Изменение морозостойкости, фотосинтеза и дыхания у люцерны под влиянием ССС.— Изв. ТСХА, 1984, вып. 1, с. 178—180.— 14. Третьяков Н. Н., Гомер В. В. Влияние ССС на содержание растворимых углеводов, белкового и небелкового азота в зоне корневой шейки люцерны и ее морозостойчивость.— Изв. ТСХА, 1984, вып. 6, с. 94—101.— 15. Третьяков Н. Н., Гомер В. В. Влияние ССС на содержание свободных аминокислот в зоне корневой шейки люцерны и морозостойкость растений.— Изв. ТСХА, 1985, вып. 1, с. 105—111.— 16. Трунова Т. И. Физиология

закаливания озимых злаков к морозу и низким положительным температурам.— Автореф. докт. дис. М., 1979.— 17. *Туманов И. И.* Физиология закаливания и морозостойкости растений.— М.: Наука, 1979.— 18. *Чайлахян М. Х.*

Регуляция цветения высших растений.— М.: Наука, 1988.— 19. *Zucker M., Ahrens I. F.*— *Plant Physiol.*, 1965, vol. 33, N 4, p. 246—249.

*Статья поступила 23 апреля 1992 г.*

## SUMMARY

In the article the data about (AA) dynamics of percentage and amount of abscisic acid (AA), gibberellic acid (GA) and flavonoids in alfalfa plants in the phase of 5—6 true leaves under the effect of chilling and freezing temperatures are given for the first time. An effort is made to explain the change in the content and the number of hormonal and non-hormonal growth regulators during the experiment not only by their synthesis or hydrolysis but also by redistribution between the plant parts (above-ground portion and root neck). The method of diagnosing frost resistance in different varieties by AA and GA content in plants after freezing at  $-5^{\circ}\text{C}$ , is suggested. Correlation between frost resistance, amount of hormones, flavonoids and water-soluble sugars has been studied.