

На правах рукописи



Семенова Елена Александровна

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ  
РОЛИ АДАПТАЦИИ СОИ В ПОВЫШЕНИИ УРОЖАЙНОСТИ**

Специальность: 06.01.01 – Общее земледелие, растениеводство

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора сельскохозяйственных наук

Москва – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Дальневосточный государственный аграрный университет»

**Научный консультант:** доктор сельскохозяйственных наук, профессор  
**Тихончук Павел Викторович**

**Официальные  
оппоненты:**

**Лукомец Вячеслав Михайлович**

доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта», врио директора;

**Кобозева Тамара Петровна**

доктор сельскохозяйственных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», кафедра эксплуатации машинно-тракторного парка и высоких технологий в растениеводстве, профессор;

**Заостровных Валентина Ивановна**

доктор сельскохозяйственных наук, доцент, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт», кафедра агрономии, селекции и семеноводства, профессор

**Ведущая организация:**

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный аграрный университет»**

Защита состоится «27» июня 2019 г. в 13.30 часов на заседании диссертационного совета Д 006.035.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства» по адресу: 115598, Москва, ул. Загорьевская, 4, тел. (495) 329-51-66, факс (495) 329-31-66, e-mail: dissovnet@vstisp.org.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства» и на сайте института в интернете: <http://vstisp.org>.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



О.А. Сорокопудова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Соя (*Glycine max* (L.) Merrill) – одна из важнейших белково-масличных культур в мировом земледелии. По своему химическому составу она уникальна. Содержание белка в сортах сои составляет от 34% до 48% в зависимости от генотипа, почвенно-климатических условий и технологий выращивания этой культуры. Помимо белка она содержит более 20% масла, которое является источником незаменимых жирных кислот – линолевой (53%) и  $\alpha$ -линоленовой (8%), содержит необходимые для организма человека аминокислоты, витамины, минеральные вещества, изофлавоноиды, фосфолипиды (Сингх Г., 2014).

Данной культуре отводится важная роль в решении продовольственной безопасности страны. Острый дефицит как пищевого, так и кормового белка ощущается во многих странах мира, он усиливается в связи с динамичным ростом народонаселения планеты. В России дефицит белка составляет 1,4 млн. т (из них одна половина – кормового белка, другая – пищевого) (Питебская В.С., 2012). В связи с этим расширение соевого производства актуально и продиктовано необходимостью импортозамещения пищевой и кормовой соевой продукции. Согласно отраслевой программе Российского Соевого Союза производство сои в России к 2020 году должно быть доведено до 7 млн. 177 тыс. тонн. Для решения этой задачи Россия располагает земельными, агроклиматическими, водными ресурсами, уникальным сортовым потенциалом и многолетним опытом возделывания сои (Отраслевая программа..., 2014).

До недавнего времени возделыванием сои в России преимущественно занимались в Дальневосточном (Амурской области, Приморском и Хабаровском краях, Еврейской автономной области) и Южном (Краснодарском крае) федеральных округах. С 2004-2008 гг. значительный рост производства сои произошел в Центральном федеральном округе (Белгородской области) (Шевченко Н.С., Смуров С.И., Зеленская Т.И., 2010). Основной резерв увеличения производства сои в России – расширение посевных площадей за счет Европейского региона, прежде всего областей Южного, Центрального и Приволжского федеральных округов (Отраслевая программа..., 2014). Однако это может быть затруднено вследствие отсутствия сортов, приспособленных к местным условиям и сортовой агротехники. В связи с этим становится актуальным вопрос интродукции сои (Посыпанов Г.С., 2007; Кобозева Т.П., 2007), подбор генотипов для каждой агроклиматической зоны должен осуществляться с учетом результатов испытания в различных экологических условиях с использованием эффективных методов тестирования (Стрижова Ф.М., 2005). Это позволит получить более полную информацию о продуктивности и устойчивости к стрессовым ситуациям.

Амурская область является идеальным регионом для производства сои, так как имеет соответствующие агроклиматические условия, здесь находится северный ареал дикорастущей сои (*Glycine soja* Siebold & Zucc), обладающей высоким адаптивным потенциалом (Ала А.Я. и др., 2009; Иваченко Л.Е., Коницев А.С., 2016). Однако потенциальную продуктивность сортов сои не всегда удается реализовать из-за значительных перепадов дневных и ночных

температур, неравномерного выпадения осадков, низких температур в начале вегетационного периода и раннего осеннего похолодания.

Экономический ущерб посевам сои наносят также болезни, вызывающие гибель всходов и поражение корневой системы, среди которых наиболее вредоносные грибные инфекции (фузариоз, аскохитоз, пероноспороз, церкоспороз, септориоз и др.), а также бактериальные (бактериальная угловатая пятнистость) и вирусные (мозаика сои), от поражения ими снижается не только количество, но и качество получаемой продукции (Дубовицкая Л.К., Положиева Ю.В., 2014).

Основой получения высокого и стабильного урожая сои является адаптивная интенсификация растениеводства, предусматривающая рациональное формирование устойчивых агроценозов с учетом контрастности, нестабильности экологических условий. В адаптивном растениеводстве повышенные требования предъявляются не только к продукционным способностям сорта, но и его адаптивности к стрессовым погодноклиматическим ситуациям, устойчивости к патогенам, надежности и стабильности по вегетации (Синеговская В.Т. и др., 2016).

Создание сортов сои, сочетающих высокую продуктивность с устойчивостью, – задача труднодостижимая. Успех этой работы в значительной мере зависит от понимания механизмов адаптации и устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям окружающей среды. Наиболее перспективным в настоящее время является биохимический подход, причем изучение биохимической адаптации целесообразно проводить на ферментативном уровне. Весьма ценную информацию в этом плане дает исследование множественных молекулярных форм ферментов (Конарев В.Г., 1983, 2001; Markert C.L., 1975; Nevo E. et al., 1986; 1988).

**Степень разработанности темы.** Изучением биохимических механизмов адаптации сои к условиям выращивания занимались О.А. Селихова (2003), П.В. Тихончук (2004), С.И. Лаврентьева (2011), Л.Е. Иваченко (2012). Однако исследования проводились со зрелыми семенами или проростками сои. Вместе с тем, для оценки адаптационного потенциала сортов сои необходимо изучение активности и состава электрофоретических спектров важнейших ферментов в онтогенезе.

Для разработки системы адаптивного растениеводства необходимо оценить устойчивость растений сои в экстремальных условиях (гипо- и гипертермии, избыточного и недостаточного увлажнения, различной длительности дня) с применением морфобиометрических и биохимических методов диагностики, базирующихся на представлениях о механизмах адаптации растений к стрессам.

Одно из направлений адаптивного растениеводства – это обеспечение фитосанитарного благополучия агрофитоценозов сои, которое невозможно без использования устойчивых сортов. В связи с этим возникает необходимость эффективной оценки сортов сои как для дальнейшего использования непосредственно в адаптивном растениеводстве, так и в качестве исходного материала для селекции на устойчивость.

Следовательно, представляется актуальным проведение разносторонних исследований по изучению адаптации сортов сои и поиска путей и способов повышения их продуктивности и устойчивости в соответствующих, зачастую экстремальных погодно-климатических условиях выращивания.

**Цель и задачи исследований.** Цель исследований – теоретически и экспериментально обосновать роль адаптации в повышении продуктивности и устойчивости сои к неблагоприятным воздействиям и разработать систему оценки её адаптивного потенциала.

Задачи:

1. Определить особенности онтогенетической адаптации культурной и дикорастущей сои к условиям внешней среды по энзиматической активности.
2. Исследовать влияние неблагоприятных абиотических факторов (гипо- и гипертермии, избыточного и недостаточного увлажнения, различной длительности дня) на рост, развитие и продуктивность растений сои, выявить особенности антиоксидантной защиты культурной и дикорастущей сои.
3. Определить болезнеустойчивость культурной и дикорастущей сои к фитопатогенам с различным типом питания, оценить роль антиоксидантных ферментов в формировании устойчивости растений сои.
4. Изучить влияние агроклиматических условий региона выращивания сои на урожайность и биохимические показатели семян, охарактеризовать адаптивность сортов сои, включенных в исследование.
5. Оценить возможности использования активности и гетерогенности ферментов для диагностики устойчивости сои к абиотическим и биотическим факторам.
6. Разработать систему оценки адаптивных свойств сои для выявления генотипов, обеспечивающих формирование высокопродуктивных и экологически устойчивых агрофитоценозов.
7. Определить экономическую эффективность выращивания сортов сои в различных агроклиматических условиях.

**Научная новизна.** Впервые дана оценка адаптивных свойств сои по параметрам пластичности, гомеостатичности, стрессоустойчивости, стабильности по урожайности и показателям качества семян при выращивании в контрастных агроклиматических условиях (Амурской, Саратовской, Оренбургской областей и Хабаровского края). Установлена динамика изменения активности и электрофоретических спектров пероксидаз и каталаз в процессе прорастания, развития и созревания растений *G. max* и *G. soja*, различающихся адаптационным потенциалом, и в зависимости от метеорологических условий. Определены механизмы антиоксидантной защиты, действующие при выращивании сои в экстремальных условиях (гипо- и гипертермия, избыточное и недостаточное увлажнение почвы, различная длительность дня). Доказаны различия в защитных реакциях у контрастных по устойчивости *G. max* и *G. soja* при заражении патогенами с разным типом питания: *Fusarium solani* (некротроф), *Septoria glycines* (гемибиотроф), *Perenospora manshurica* (биотроф). Установлено, что устойчивость растений сои к возбудителям болезней связана с изменением активности ферментов в

ответ на внедрение патогена и не зависит от изначальной активности пероксидазы и каталазы в листьях сои. Выявлены формы ферментов, которые можно использовать в качестве маркеров устойчивости сои к абиотическим и биотическим факторам. Разработана система оценки адаптивных свойств сои с использованием визуальных, морфобиометрических, биохимических и статистических методов.

**Теоретическая и практическая значимость.** Выявлены межсортовые и межвидовые различия сои в активности и электрофоретических спектрах пероксидаз и каталаз при прорастании, в период вегетации и на стадии формирования и налива семян. Обоснована роль антиоксидантной защиты в адаптации и устойчивости *G. max* и *G. soja* к гипо- и гипертермии, избыточному и недостаточному увлажнению почвы, различной длительности дня, воздействию фитопатогенов. Результаты изучения адаптации сои позволили дифференцировать сорта сои по их адаптивным свойствам, урожайности и качеству семян с целью дальнейшего использования в адаптивном растениеводстве и селекции. Разработана шкала для сравнительной оценки ферментативной активности (пероксидазы и каталазы) в семенах, проростках и листьях сои.

Результаты исследований внедрены в ФГБНУ «ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки» и в сельскохозяйственных предприятиях Амурской области: ЗАО «Агрофирма АНК», ЗАОР(НП) «Агрофирма «Партизан»», использованы в изданном в 2016 году производственно-практическом справочнике «Система земледелия Амурской области». Основные теоретические положения и практические результаты диссертационной работы используются в учебном процессе ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ для подготовки бакалавров и магистрантов по направлению «Агрономия» при преподавании профильных дисциплин «Растениеводство», «Адаптивное растениеводство», «Экологические основы интегрированной защиты растений».

Работа выполнена в рамках программы НИР Министерства сельского хозяйства России, тема «Оценка агроэкологической адаптивности сортов сои», является частью тематического плана ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ, тема «Биохимическая адаптация культурной и дикой сои» (номер госрегистрации 0120.0503579).

**Методология и методы исследований.** Методологической основой исследований явился системный подход в познании механизмов адаптации сои к неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам внешней среды и её взаимосвязи с урожайностью растений. Теоретическую основу исследований составили законы биологии, экологии, положения адаптивного растениеводства, теории статистики и вероятности. Для проверки выдвинутых положений и решения поставленных задач использовались следующие методы исследований: теоретический анализ литературных источников; эксперимент в естественных и смоделированных контролируемых условиях; анализ и синтез экспериментальных данных; статистическая обработка результатов эксперимента.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- особенности онтогенетической адаптации *G. max* и *G. soja*, обусловленные различной изменчивостью биохимических показателей;
- взаимное влияние компонентов антиоксидантной системы в обеспечении нормальной жизнедеятельности растений *G. max* и *G. soja* при воздействии на них неблагоприятных факторов;
- взаимосвязь энзиматической активности с экологической устойчивостью и урожайностью сои в системе «генотип-среда»;
- использование активности ферментов для диагностики устойчивости сои к абиотическим и биотическим факторам;
- экономическая оценка выращивания сортов сои с разной экологической пластичностью в контрастных агроклиматических условиях.

**Степень достоверности результатов исследований.** Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы теоретическими и экспериментальными данными, они не противоречат известным положениям агрономических и биологических наук: базируются на строго доказанных выводах многолетних исследований, данные обработаны методами математической статистики.

**Апробация работы.** Основные положения диссертации доложены на научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов Дальневосточного государственного аграрного университета (г. Благовещенск, 2004-2017 гг.); школе-семинаре молодых селекционеров им. В.А. Золотницкого (г. Благовещенск, ВНИИ сои, 2004, 2007 гг.); координационных совещаниях зоны Дальнего Востока и Сибири «Итоги координации НИР по сое за 2001-2004 гг. и направления исследований на 2006-2010 гг.», по программе «Соя», «Итоги координации НИР по сое за 2006-2010 гг. и направления исследований на 2012-2015 гг.» (г. Благовещенск, ВНИИ сои, 2005, 2009, 2012 гг.); V Международной научно-практической конференции «Интродукция нетрадиционных и редких растений» (пос. Персиановский, 7-11 июня 2004 г.); VI Международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (г. Пущино, 18-22 июня 2007 г.); межведомственной научно-практической конференции «Современные проблемы исследований в биологии» (г. Благовещенск, 16 апреля 2009 г.); Всероссийской научной конференции «Устойчивость организмов к неблагоприятным факторам внешней среды» (г. Иркутск, 24-28 августа 2009 г.); Международных научно-практических конференциях: «Аграрные проблемы соеосеющих территорий Азиатско-Тихоокеанского региона» (г. Благовещенск, 8-9 сентября 2010 г.); «Фундаментальные и прикладные исследования» (города Рим-Флоренция (Италия), 6-13 сентября 2012 г.); «Фундаментальные исследования» (г. Тель-Авив (Израиль), 16-23 октября 2012 г.); «Фундаментальные и прикладные науки сегодня» (North Charleston (USA), 12-13 сентября 2016 г.); «Научное обеспечение производства сои: проблемы и перспективы» (г. Благовещенск, 18 апреля 2018 г.); II Амурском региональном фестивале науки (г. Благовещенск, 29 октября 2012 г.), III Амурском российско-китайском фестивале науки (г. Благовещенск – г. Хэйхэ (КНР), 30-31 октября

2013 г.); семинаре научно-технического обмена по российско-китайской современной агротехнике (г. Хэйхэ (КНР), 20 сентября 2016 г.).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 50 работ, включая 21 работу в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ и 1 монографию.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, семи глав, заключения, практических рекомендаций, списка литературы, содержащего 642 источника, в том числе 211 на иностранных языках, и приложений. Общий объем диссертации 470 страниц, содержит 63 рисунка, 77 таблиц и 16 приложений, включающих 80 таблиц.

**Личный вклад автора.** Проведение полевых и лабораторных опытов, всех учетов, наблюдений и анализов осуществлялось при непосредственном участии автора совместно с аспирантами и другими исследователями (о чем свидетельствуют ссылки на совместные публикации). Автором выполнено обобщение полученных данных, теоретический и статистический анализ результатов, формулирование заключения и рекомендаций производству.

**Благодарности.** Автор выражает глубокую благодарность доктору сельскохозяйственных наук, профессору Тихончуку П.В., декану факультета агрономии и экологии, кандидату сельскохозяйственных наук Селиховой О.А., кандидату сельскохозяйственных наук, доценту Дубовицкой Л.К., кандидату биологических наук Хайрулиной Т.П., кандидату биологических наук Титовой С.А. – за консультации и помощь в проведении исследований, доктору сельскохозяйственных наук Мордвинцеву М.П. (ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ), научному сотруднику Комолых В.О. (ФГБНУ «ДВ НИИСХ»), руководителю лаборатории селекции и семеноводства сои Решетникову А.А., ведущему научному сотруднику, кандидату сельскохозяйственных наук Соколову С.М. (ФГБНУ «Ершовская ОСОЗ НИИСХ Юго-Востока») – за проведение полевых опытов в своих подразделениях.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**ВВЕДЕНИЕ.** Обоснована актуальность работы, прописаны цель и задачи исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту, апробация результатов исследований.

### **ГЛАВА 1 ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ И УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ (АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

В данной главе представлен анализ теоретических основ адаптации и устойчивости живых организмов. Рассмотрены особенности взаимосвязи потенциальной продуктивности и экологической устойчивости растений. Особое внимание уделено биохимическим механизмам адаптации. Показано, что открытие изоферментов позволяет глубже понять молекулярные основы приспособления растений к условиям окружающей среды. Отмечено, что познание биохимических процессов на уровне ферментных систем необходимо для разрешения проблем растениеводства, связанных с сохранением урожая и его качества в условиях стресса.



## ГЛАВА 2 УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полевые опыты проводили: в Амурской области на опытном поле ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ (с. Грибское, Благовещенский район) (2003-2013 гг.); в Хабаровском крае на селекционном поле ФГБНУ «ДВ НИИСХ» (с. Восточное, Хабаровский район) (2010-2013 гг.); в Оренбургской области на учебно-опытном поле ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ (п. Пригородный, Оренбургский район) (2010-2013 гг.); в Саратовской области на опытном поле ФГБНУ «Ершовская ОСОЗ НИИСХ Юго-Востока» (п. Тулайково, Ершовский район) (2010-2013 гг.).

### 2.1 Климатические и почвенные условия районов исследования

Климат Амурской области резко континентальный по температурному режиму и муссонный по характеру формирования, которое происходит под влиянием Азиатского континента и Тихого океана, имеющих различную температуру поверхностей в зимнее и летнее время (Система земледелия..., 2016). Метеорологические условия в Амурской области в годы проведения исследований (2003-2013 гг.) различались по температурному режиму и количеству выпавших осадков, в основном это были годы с избыточным увлажнением (ГТК = 1,7-3,8). Однако, несмотря на большое количество осадков в июле и августе, которые приводят к переувлажнению почвы, агрометеорологические условия в целом благоприятны для возделывания сортов сои, хорошо адаптированных к местным экологическим условиям. Положительным фактором изменения агроклиматических ресурсов является увеличение суммы активных температур, так как удлинение вегетационного периода чрезвычайно важно для получения полноценного урожая сои.

Климат Хабаровского края носит муссонный характер. Растения сои часто испытывают недостаточное количество тепла в конце вегетационного периода и переувлажнение в период «цветение-созревание», то есть в фазы, наиболее важные для формирования полноценного урожая сои. Анализ ГТК в Хабаровском крае показал, что три года были избыточно влажными (ГТК от 1,7 до 2,2) и только 2013 год – влажный (ГТК = 1,6).

Характерные особенности климата Саратовской области – континентальность, засушливость. За время проведения исследований погодные условия в период вегетации сои были засушливыми (ГТК = 0,9), очень засушливыми (ГТК = 0,6) и сухими (ГТК = 0,2-0,3), осадков выпадало 56-287 мм, средняя температура самого теплого месяца (июля) составляла 22,2-29,7°C. Растения в период роста и развития испытывали недостаток влаги, что привело к снижению урожайности сои.

В Оренбургской области климат характеризуется холодной зимой и жарким летом. В годы проведения исследований метеорологические условия были неблагоприятными: два года были засушливыми (ГТК = 0,7), один год – сухим с ГТК = 0,4, а 2010 год – очень сухим (ГТК = 0,1). В результате продуктивность сои оказалась очень низкой, а семена – легковесными и щуплыми.

Почвы опытного участка ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ лугово-черноземовидные, характеризуются низким содержанием подвижного фосфора ( $P_2O_5$ ) – 26 мг/кг почвы; высоким содержанием обменного калия ( $K_2O$ ) – 203 мг/кг почвы (по А.Т. Кирсанову). Содержание минерального азота ( $N_{мин}$ ) в почве составляло 21,8 мг/кг почвы; реакция почвенного раствора слабокислая –  $pH_{KCl} = 5,7$ . Почвы селекционного поля ФГБНУ «ДВ НИИСХ» лугово-бурые оподзоленные, сильно кислые –  $pH_{KCl} = 4,0$ . Содержание подвижного фосфора по А.Т. Кирсанову – 53 мг/кг, обменного калия – 194 мг/кг, минерального азота – 40,1 мг/кг почвы. Почвы опытного участка ФГБНУ «Ершовская ОСОЗ НИИСХ Юго-Востока» представлены темно-каштановыми разностями, реакция почвенного раствора нейтральная –  $pH_{KCl} = 6,8$ , содержание подвижного фосфора по Б.П. Мачигину – 71 мг/кг, обменного калия – 563 мг/кг, минерального азота – 28,5 мг/кг почвы. Почвенный покров учебно-опытного поля ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ представлен в основном чернозёмом южным, реакция почвенного раствора нейтральная –  $pH_{KCl} = 6,8$ . Содержание минерального азота составляло 5,5 мг/кг, подвижного фосфора по Б.П. Мачигину – 33 мг/кг; обменного калия – 372 мг/кг почвы.

## 2.2 Объекты исследования

Объектом исследования служили сорта культурной сои (*Glycine max* (L.) Merrill) Соната, Гармония, Лидия, Даурия, Марината, Соер 4 и дикорастущая форма (*Glycine soja* Siebold & Zucc.) КА 1344.

## 2.3 Методы исследования

Для изучения онтогенетической адаптации представителей рода *Glycine* L. к условиям внешней среды был заложен полевой опыт (2003-2005 гг.) на опытном поле ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ. Сою высевали вручную на глубину 4-5 см, с площадью питания одного растения 50x90 см. Такой способ посева позволяет одиночным растениям, свободным от конкуренции с другими особями, полностью реализовать свой биологический потенциал (Мошков Б.С., 1973; Ничипорович А.А., 1982). Семена дикорастущей сои перед посевом скарифицировали. Площадь делянки составляла 72 м<sup>2</sup>. Повторность 4-кратная, расположение делянок рендомизированное.

Для изучения адаптации культурной и дикорастущей сои к неблагоприятным абиотическим факторам были заложены полевой и вегетационные опыты (2008-2010 гг.) в соответствии с методиками, предложенными Б.А. Доспеховым (1985), Ф.А. Юдиным (1971). Схема вегетационного опыта № 1: контроль (естественные условия); воздействие на растения сои (по фазам развития) высокой положительной температуры ( $t = 45^{\circ}C$  в течение 2 и 12 часов); воздействие на растения сои (по фазам развития) низкой положительной температуры ( $t = 5^{\circ}C$  в течение 2 и 48 часов). Определение антиоксидантов проводили в течение всего периода вегетации (по фазам развития) сразу после воздействия температуры и на 7 сутки.

Схема вегетационного опыта № 2: 1. Контроль – 70% полной влагоемкости (ПВ) весь период вегетации; 2. 135% ПВ – весь период вегетации; 3. 35% ПВ – весь период вегетации; 4. 35% ПВ – «всходы – цветение», затем перевод на 70% ПВ; 5. 135% ПВ – «всходы – цветение», затем перевод на 70%

ПВ; 6. 70% ПВ – «всходы – цветение», затем перевод на 35% ПВ; 7. 70% ПВ – «всходы – цветение», затем перевод на 135% ПВ.

Схема полевого опыта: 1. Контроль (естественные условия, 16 часов период «всходы – цветение»); 2. Короткий день (12 часов) с появления всходов до фазы цветения. Двенадцатичасовой день создавали искусственно путем затемнения растений с 20 часов вечера до 8 часов утра. Семена высевали по четыре рядка длиной 1,25 см с междурядьями 45 см. Площадь питания одного растения – 5×45 см. Площадь делянки составляла 6,75 м<sup>2</sup>, повторность 4-кратная.

Для изучения устойчивости сои к воздействию биотических факторов (2008-2011 гг.) сою высевали вручную на глубину 4-5 см, с площадью питания одного растения 3×45 см, такой способ посева применяли для создания естественного инфекционного фона, ширина междурядий – 45 см, длина рядка – 5 м. Площадь делянки – 29,25 м<sup>2</sup>, учетная площадь – 11,25 м<sup>2</sup>, Повторность 4-кратная, расположение делянок рендомизированное.

Опыты по изучению влияния агроклиматических условий выращивания сои на урожайность и биохимические показатели сои были заложены (2010-2013 гг.) на опытном поле ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ, селекционном поле ФГБНУ «ДВ НИИСХ», опытном поле ФГБНУ «Ершовская ОСОЗ НИИСХ Юго-Востока», учебно-опытном поле ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ. Семена высевали в 4-х повторностях по 25 штук с площадью питания одного растения 5×45 см, ширина междурядий – 45 см, длина рядка – 1,25 м. Площадь делянки – 7,65 м<sup>2</sup>. Сою высевали в оптимальные для каждого региона сроки.

В полевых опытах во все годы исследований сою размещали после черного пара. В процессе роста сои отмечали следующие фазы развития: всходы, первый и третий тройчатый лист, ветвление, цветение, бобообразование, созревание. Наступление фаз развития растений сои отмечали по «Методике государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур» (1989). Уборку сои *G. max* проводили в фазе полной спелости, *G. soja* – до растрескивания нижних бобов.

Определение посевных и сортовых качеств семян осуществляли в соответствии с ГОСТ Р 52325-2005. Почвенные образцы для агрохимического анализа отбирались по ГОСТ 28168-89. В почве определялись следующие показатели: подвижные соединения фосфора и калия по методу А.Т. Кирсанова (ГОСТ 26207-91) в модификации Центрального научно-исследовательского института агрохимического обслуживания сельского хозяйства (ЦИНАО) и по методу Б.П. Мачигина (ГОСТ 26205-91) в модификации ЦИНАО; нитратный азот ионометрическим методом (ГОСТ 26951-86); аммонийный азот методом ЦИНАО (ГОСТ 26489-85); актуальную и обменную кислотность методом ЦИНАО (ГОСТ 26483-90).

#### **Оценка устойчивости растений сои к болезням**

Для оценки устойчивости сои к болезням растения обследовали непосредственно в поле по 10 штук с делянки каждого сорта в следующие фазы: всходы, первый и третий тройчатый лист, цветение, бобообразование. Все учёты проводили по методике ВИР (Корсаков Н.И. и др., 1979).

Для диагностики устойчивости сортов к листостеблевым болезням (септориозу и пероноспорозу) пользовались шкалой (Голубев А.А., 1976; Корсаков Н.И. и др., 1979). Поражение корневой системы оценивали по методике ВИЗР (Котова В.В., Степанова М.Ю., 1979). Идентификацию патогенов проводили методом микроскопирования (Дудка И.А. и др., 1982; Новосадов И.Н., Дубовицкая Л.К., Положиева Ю.В., 2017). Определение заражённости семян болезнями проводили по ГОСТ 12044–93. Обследование семян проводили в сроки определения всхожести семян по ГОСТ 12038–84.

#### **Биохимические методы исследования**

Биохимические исследования по определению энзиматической активности и низкомолекулярных антиоксидантов проводили в научно-исследовательской лаборатории «Соля» ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ и биохимической лаборатории ФГБОУ ВО «Благовещенский государственный педагогический университет».

Активность пероксидазы (КФ 1.11.1.7) определяли по скорости окисления бензидаина методом А.Н. Бояркина (Бояркин А.Н., 1951; Малый..., 1994), в модификации Л.Е. Иваченко, Г.П. Ефимовой (1995).

Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) определяли газометрическим методом (Методы ..., 1987; Иваченко Л.Е., Шаройко В.И., Ефимова Г.П., 1997).

Удельную активность ферментов рассчитывали в единицах на 1 мг белка, определенного по методу О.Н. Lowry (Филиппович Ю.Б. и др., 1982; Lowry O.N. et al., 1951) или биуретовым методом (Методы ..., 1987).

Аскорбиновую кислоту определяли методом титрования краской Тильманса (Плешков Б.П., 1985). Каротин экстрагировали бензином и определяли фотоколориметрическим методом (Плешков Б.П., 1985). Токоферол – методом, основанным на образовании хинонов при окислении молекул токоферола хлорным железом (Методы ..., 1987; Кисилевич Р.Ш., Скварко С.И., 1972). Содержание витаминов рассчитывали в мг%. Все анализы проводили в двух биологических и трех аналитических повторностях.

Для выявления множественных молекулярных форм ферментов использовали диск-электрофорез в 7,5% полиакриламидном геле при температуре 4°C по методике В.Д. Davis (1964) в модификации В.И. Сафонова, М.П. Сафоновой (1971). По окончании электрофореза проводили специфическое окрашивание зон активности ферментов (Сафонов В.И., Сафонова М.П., 1971; Грушин А.А., Ивакин А.П., 1986). Основным критерием для характеристики множественных молекулярных форм ферментов была их относительная электрофоретическая подвижность (Rf).

Содержание в семенах сои белка, жира, аминокислотный и жирнокислотный состав определяли на ИК-анализаторе «Nir Sistem 5000» в аналитической лаборатории ФГБНУ «ВНИИ сои». Все анализы выполнялись в трех аналитических повторностях.

### **Статистическая обработка полученных результатов**

Математическая обработка экспериментальных данных проведена методами дисперсионного, регрессионного и корреляционного анализов (Плохинский Н.А., 1970; Доспехов Б.А., 1985; Короневский В.И., 1985; Лакин Г.Ф., 1990).

Расчет экологической пластичности и стабильности проведен по методике S.A. Eberhart и W.A. Russell (1966), изложенной В.З. Пакудиным (1976, 1980). Стрессоустойчивость сортов определяли по А.А. Rossielle, J. Hamblin (1981) в изложении А.А. Гончаренко (2005), гомеостатичность – по В.В. Хангильдину (1979), коэффициент вариации признаков – по Б.А. Доспехову (1985).

Для всех средних величин рассчитывалась стандартная ошибка, статистически значимые различия оценивали, используя критерий Стьюдента (Доспехов Б.А., 1985). Обработка экспериментальных данных выполнена с использованием стандартных компьютерных программ Microsoft Office Excel.

### **ГЛАВА 3 ОНТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ *G. MAX* И *G. SOJA* К УСЛОВИЯМ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ**

В основе онтогенетической адаптации растений лежит модификационная изменчивость физиологических, биохимических и морфологических приспособительных реакций, находящихся под генетическим контролем (Жученко А.А., 2001). Для более глубокого и всестороннего понимания биохимических механизмов адаптации к условиям внешней среды была определена динамика изменения активности и электрофоретических спектров пероксидазы и каталазы в период прорастания, в течение вегетационного периода и созревания семян у *G. max* (сортов Соната, Гармония) и *G. soja* (формы КА 1344).

#### **3.1 Адаптация *G. max* и *G. soja* к условиям внешней среды в период прорастания**

Для прорастания семян нужны определенные экологические условия – достаточная влажность, доступ кислорода и благоприятная температура (Майер А.М., 1982). Условия влаго- и теплообеспеченности 2003 и 2005 гг. удовлетворяли биологическим требованиям сои, длительность периода прорастания составила соответственно 12-17 суток у *G. max* и 12-14 суток у *G. soja*. В 2004 г. влажность почвы снижалась до 14-15%, посеvy сои оказались сильно изреженными, дружные всходы появились только в конце июня, когда выпавшие осадки пополнили запасы влаги в почве. Период «посев – всходы» у *G. soja* составил 15 суток, у *G. max* – 24 суток. *G. soja* оказалась более адаптирована к недостатку влаги, что объясняется меньшим количеством воды, необходимым для набухания её семян.

Важная роль в онтогенетической адаптации растений принадлежит ферментам, которые поддерживают постоянство метаболизма при влиянии различных факторов среды (Хочачка П., Сомеро Дж., 1977). Кроме этого, ключевые регуляторные ферменты представлены в виде изоферментных систем (Уилкинсон Дж., 1968; Райдер К., Тейлор К., 1983; Корочкин Л.И., 1987; Глазко В.И., Созинов И.А., 1993; Markert C.L., 1975). В период прорастания *G. max* и

*G. soja* наблюдается увеличение активности ферментов: максимальная активность пероксидазы отмечена в период набухания семян, каталазы – в период растягивания зародышевого корешка.

Резкое увеличение активности ферментов в прорастающих семенах в большинстве случаев вызвано новообразованием белков. Наряду с синтезом белков de novo важную роль играет также высвобождение латентных форм ферментов, удаление низкомолекулярных ингибиторов или увеличение уровня доступных субстратов (Хавкин Э.Е., 1969).

На основании литературных данных и наших исследований можно полагать, что ритмичность активности ферментов при прорастании имеет эндогенный характер, однако не исключено влияние экологических условий (температуры, влажности, освещенности и т.д.). Установлена отрицательная статистически значимая связь активности пероксидазы с температурой почвы ( $r = -0,644$ ,  $p < 0,01$ , где  $p$  – уровень значимости) в фазе растягивания зародышевого корешка, в то же время с влажностью почвы она была положительной ( $r = 0,627$ ,  $p < 0,01$ ). Среди статистически значимых корреляций активности каталазы с температурным и влажностным режимом почвы следует отметить положительную сопряженность с влажностью почвы в фазы набухания семян и выхода зародышевого корешка ( $r = 0,492$ ,  $p < 0,01$ ;  $r = 0,782$ ,  $p < 0,01$  соответственно) и отрицательную с температурой почвы ( $r = -0,611$ ,  $p < 0,01$ ;  $r = -0,669$ ,  $p < 0,01$  соответственно) в данные фазы.

Выход растения на поверхность почвы сопровождается снижением удельной активности каталазы. Корреляция фермента в этой фазе была сильной отрицательной с температурой ( $r = -0,754$ ,  $p < 0,01$ ) и положительной с влажностью воздуха ( $r = 0,747$ ,  $p < 0,01$ ).

Прорастание семян сопровождается качественными изменениями в наборе множественных молекулярных форм ферментов. Семена изучаемых сортов и формы дикорастущей сои имеют индивидуальные спектры пероксидазы. Набухание семян сопровождается уменьшением числа форм с четырёх (семена) до двух-трёх форм фермента. Увеличение гетерогенности пероксидазы у сои отмечено в период выхода зародышевого корешка.

В результате исследования электрофоретических спектров каталазы семян установлено, что при прорастании семян (растягивание зародышевого корешка) увеличивается не только активность, но и количество множественных молекулярных форм фермента до пяти у *G. max* и четырех у *G. soja*. Выход растения на поверхность почвы сопровождается уменьшением количества множественных молекулярных форм, электрофоретические спектры каталазы *G. max* и *G. soja* в этот период имеют большое сходство, содержат по две-три формы.

Успешная адаптация сои к погодным условиям Амурской области связана с качественными изменениями в наборе множественных молекулярных форм ферментов. Высокая температура и недостаток влаги в период прорастания увеличивают гетерогенность пероксидазы и, наоборот, уменьшают гетерогенность каталазы у проростков *G. max* и *G. soja*.

### 3.2 Адаптация *G. max* и *G. soja* к условиям внешней среды в течение вегетационного периода

Вегетативный период у *G. soja* на 7-8 суток длиннее, чем у *G. max*. Продолжительность генеративного периода у *G. soja* на 9-11 суток короче, чем у сортов Соната и Гармония. Более короткий генеративный период у дикорастущей сои является одним из адаптивных признаков, позволяющих избежать неблагоприятного воздействия абиотических факторов в «критические» периоды развития сои. Исследование динамики изменения активности и электрофоретических спектров рассматриваемых ферментов в онтогенезе позволило выявить особенности адаптации культурной и дикорастущей сои. В листьях сои удельная активность ферментов изменяется скачкообразно, максимум пероксидазы установлен в фазе созревания семян, каталазы – в фазе бобообразования. Удельная активность пероксидазы и каталазы в период своего максимума выше в листьях *G. soja*, что свидетельствует о её высоком адаптивном потенциале.

Энзиматическая активность зависела от погодных условий вегетационного периода. Выявлены положительные статистически значимые зависимости активности пероксидазы с температурой воздуха в фазы первого, третьего тройчатого листа, бобообразования и созревания семян (от  $r = 0,617$  до  $r = 0,785$ ,  $p < 0,01$ ) и каталазы с суммой осадков, наиболее тесные связи установлены в фазах третьего тройчатого листа и созревания семян ( $r = -0,746$ ,  $p < 0,01$  и  $r = -0,647$ ,  $p < 0,01$  соответственно). И наоборот, отрицательные связи установлены между активностью пероксидазы и суммой осадков, наиболее тесные в фазы первого тройчатого листа и созревания семян ( $r = -0,663$ ,  $p < 0,01$  и  $r = -0,683$ ,  $p < 0,01$  соответственно), между активностью каталазы и температурой воздуха, наиболее тесные в фазах третьего тройчатого листа и созревания семян ( $r = -0,746$ ,  $p < 0,01$  и  $r = -0,647$ ,  $p < 0,01$  соответственно).

Сравнение электрофоретических спектров изучаемых ферментов показало наличие большого сходства между сортами *G. max* и формой *G. soja*, качественные и количественные изменения наблюдались в процессе роста и развития растений. В онтогенезе листьев количество множественных молекулярных форм пероксидазы увеличивается, каталазы – уменьшается. Система адаптации в ходе онтогенеза включает образование дополнительных множественных молекулярных форм: высокая температура воздуха и недостаток влаги увеличивают гетерогенность пероксидазы, переувлажнение, наоборот, приводит к увеличению гетерогенности каталазы у *G. max* и *G. soja*.

### 3.3 Адаптация *G. max* и *G. soja* к условиям внешней среды в период созревания семян

На продолжительность формирования, развития и созревания семян влияют как сортовые особенности, так и погодные условия. Наиболее продолжительный период созревания семян отмечен в 2003 году, который отличался дождливыми и прохладными погодными условиями. Самый короткий период созревания семян сои за годы исследования наблюдался в 2005 году, характеризующемся высокими среднесуточными температурами в летние месяцы, превышающими многолетние на 2-3°C.

Условия внешней среды оказывают воздействие не только на продолжительность развития и созревания семян, но и на характер процессов, протекающих в них. В созревающих семенах сои максимальная удельная активность пероксидазы приходится на фазу налива семян, удельная активность каталазы – на эмбриональную фазу (табл. 1, 2).

По мере налива и созревания семян каталазная активность падает, достигает минимального значения к концу созревания. На основании литературных данных (Чалый И.И., 1973) и наших исследований, полностью сформировавшиеся семена характеризуются низкой активностью каталазы, поэтому активность этого фермента может служить сравнительным показателем спелости семян. Удельная активность ферментов стабилизируется в фазе твердовосковой спелости.

Таблица 1 – Удельная активность пероксидазы в семенах *G. max* и *G. soja* в период созревания, ед/мг белка, среднее за 2003-2005 гг.

Сорт (форма*) (фактор В)	Фазы развития семян, ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ ) (фактор А)					
	эмбриональная	мягковосковая	роста	налива	твердовосковая	твердая
Соната	8 ± 1	63 ± 10	88 ± 15	204 ± 29	122 ± 17	94 ± 11
Гармония	8 ± 1	72 ± 8	118 ± 14	204 ± 28	133 ± 16	122 ± 16
КА 1344*	5 ± 1	69 ± 12	152 ± 25	663 ± 92	318 ± 39	287 ± 41
НСР <sub>05</sub> = 5; НСР <sub>А</sub> = 3; НСР <sub>В</sub> = 2						

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

Таблица 2 – Удельная активность каталазы в семенах *G. max* и *G. soja* в период созревания, ед/мг белка × 10<sup>-3</sup>, среднее за 2003-2005 гг.

Сорт (форма*) (фактор В)	Фазы развития семян ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ ) (фактор А)					
	эмбриональная	мягковосковая	роста	налива	твердовосковая	твердая
Соната	2194 ± 316	361 ± 45	256 ± 31	117 ± 15	31 ± 4	28 ± 3
Гармония	3480 ± 302	352 ± 45	243 ± 35	163 ± 28	42 ± 5	38 ± 4
КА 1344*	1398 ± 166	756 ± 99	517 ± 65	346 ± 62	71 ± 9	65 ± 8
НСР <sub>05</sub> = 23; НСР <sub>А</sub> = 13; НСР <sub>В</sub> = 9						

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

Установлены значительные колебания удельной активности пероксидазы в зависимости от погодных условий. Самая высокая удельная активность пероксидазы в семенах сои была зафиксирована в 2005 году, а самая низкая – в 2003 году. Корреляционный анализ позволил выявить фазы созревания семян, которые отличались наиболее тесной сопряженностью пероксидазной активности с температурой воздуха, это мягковосковая фаза ( $r = 0,746$ ,  $p < 0,01$ ) и фаза роста ( $r = 0,765$ ,  $p < 0,01$ ). С суммой осадков активность пероксидазы слабо коррелировала. Взаимосвязи удельной активности каталазы с гидротермическими факторами были слабыми или средней силы.



Анализ множественных молекулярных форм ферментов показал, что в процессе формирования семян гетерогенность пероксидазы увеличивается за счет появления дополнительных форм со средней и низкой электрофоретической подвижностью. Электрофоретические спектры пероксидазы сортов Соната и Гармония в фазе твердой спелости содержат по четыре формы. В семенах формы КА 1344 электрофоретические спектры, в разные годы исследования, представлены пятью-семью формами, что свидетельствует о её большой устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды.

Электрофоретические спектры каталазы в начале формирования и развития семян у изучаемых растений слабо отличались друг от друга. Межсортовые различия по числу форм фермента начинают проявляться в фазе твердосковской спелости. В фазе твердой спелости у сортов Соната и Гармония выявлены по три, у формы КА 1344 – четыре формы с низкой и средней подвижностью. Установлено, что высокий температурный фон в период формирования семян способствовал увеличению гетерогенности пероксидазы, переувлажнение почвы – гетерогенности каталазы.

По результатам многолетних исследований была разработана шкала для сравнительной оценки ферментативной активности (пероксидазы и каталазы) (табл. 3).

Таблица 3 – Шкала сравнительной оценки удельной активности ферментов

Удельная активность	Пероксидаза, ед/мг белка	Каталаза, ед/мг белка
Очень слабая	< 1	< 0,001
Слабая	1 – 10	0,001 – 0,010
Средняя	10 – 50	0,010 – 0,100
Высокая	50 – 100	0,100 – 1,0
Очень высокая	> 100	> 1,0

Таким образом, онтогенетическая адаптация *G. max* и *G. soja* к условиям внешней среды осуществляется за счет изменчивости состава и активности ферментов. Высокая сопряженность энзиматической активности с гидротермическими факторами была установлена в ответственные периоды роста и развития растений (прорастание семян, цветение, образование бобов, налив семян). В онтогенезе листа гетерогенность каталазы уменьшается, пероксидазы – увеличивается. Удельная активность ферментов семян сои стабилизируется в фазе твердосковской спелости, электрофоретические спектры ферментов приобретают специфичность в фазе твердой спелости. Установлены положительные взаимосвязи активности и гетерогенности пероксидазы в листьях и семенах сои со среднесуточной температурой воздуха, активности и гетерогенности каталазы – с количеством осадков.