

Селихова Т.Н., Зубарева К.Ю., Ятчук П.В., Расулова В.А.

Исследование влияния минерального питания на биохимические свойства семян сои

.....
Электронный научно-производственный журнал
«АгроЭкоИнфо»

=====
УДК 635.655+633.853.52]:581.19:631.5:631.151.2

Исследование влияния минерального питания на биохимические свойства семян сои

Селихова Т.Н., Зубарева К.Ю., Ятчук П.В., Расулова В.А.

Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур

Аннотация

Проблема дефицита пищевого белка в мировом масштабе в ближайшие десятилетия остается актуальной. В сфере растениеводства решение данной задачи осуществляется за счет расширения посевных площадей и увеличения урожайности зернобобовых культур, характеризующихся повышенным содержанием качественного белка. Однако интенсификация сельскохозяйственного производства сопровождается безжалостным «пестицидным прессингом», что, в свою очередь, приводит не только к интоксикации конечной продукции, но к загрязнению окружающей среды. Поэтому в преддверии вступления в силу закона об органической продукции в РФ значимы и своевременны сравнительные количественные и качественные исследования белкового комплекса семян растений, полученных в результате использования экспериментальной технологии, характеризующейся щадящими способами внесения минимизированных доз биопрепаратов.

В статье представлены результаты исследования влияния обработки растений сои препаратами АО «Щелково Агрохим». Анализировали зерно растений новых сортов сои Зуша и Осмонь, выращенных в севообороте ФГБНУ ФНЦ ЗБК Орловской области. Анализ содержания белка проводили в соответствии с ГОСТ Р 32044.1-12 (ISO 5983-1:2005), а выделение, электрофоретическое разделение и анализ спектров запасных белков семян проводили с использованием стандартного арбитражного метода ISTA. В электрофоретических спектрах белков семян сортов сои Осмонь и Зуша обнаружено 68 компонентов различной интенсивности окрашивания. Исследование показало отсутствие различий между вариантами опыта по наличию и интенсивности окрашивания белковых компонентов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что используемые биомикропрепараты не оказывают негативного влияния на накопление белков и качество белкового комплекса семян исследуемых сортов сои.

Ключевые слова: ЗЕРНОБОБОВЫЕ КУЛЬТУРЫ, СОЯ, МИНЕРАЛЬНОЕ

=====

ПИТАНИЕ, ЗАПАСНЫЕ БЕЛКИ, ЭЛЕКТРОФОРЕЗ, СПЕКТР, БЕЛКОВЫЙ КОМПОНЕНТ

Введение

Традиционным способом решения проблемы дефицита пищевого белка является получение сельскохозяйственной продукции с его повышенным содержанием и улучшенным профилем незаменимых аминокислот.

Решать эту проблему в сфере растениеводства многие ученые предлагают за счет масштабного привлечения зернобобовых культур в качестве источника ценного растительного белка, имеющего в своем составе большое количество незаменимых аминокислот (лизин, валин, метионин, триптофан и другие) [1].

Увеличение производства растительного белка решается за счет расширения посевных площадей, увеличения урожайности сельскохозяйственных культур и повышения содержания белка в конечном урожае.

Посевные площади и валовые сборы сои в РФ и по всему миру имеют тенденцию к росту. По данным Федеральной службы государственной статистики в 2019 году на территории РФ посевные площади сои во всех категориях хозяйств составили 3 039,4 тыс. га (табл. 1).

Таблица 1. Посевные площади сои на территории РФ по годам

Год	2019	2018	2017	2016	2015	2014	2006	2009
Площадь, тыс.га	3039,0	2919,0	2635,8	2184,8	2123,3	2012,0	845,0	876,6

В 2019 году площади посевов сои увеличились на 3,95 %, что на 120,0 тыс. га больше, чем в 2018 году. Для сравнения, еще 10 лет назад (в 2009 году) посевы сои занимали всего 876,6 тыс. га.

Лидерами среди основных регионов-производителей соевых бобов уже несколько лет являются Амурская область, Приморский край, Курская область, Белгородская область и Краснодарский край. Доля их вклада в посевные площади сои в России представлена ниже:

1. Амурская область (размер площадей в 2019 году - 857,1 тыс. га, что на 616,8 тыс.

га (72 %) больше, чем 3 года назад в 2016 году; доля в общих площадях 2019 года - 28,2 %);

2. Приморский край (309,4 тыс. га, что на 241 тыс. га (354 %) больше, чем 3 года назад в 2016 году; доля в общих площадях 2019 года - 10,2 %);

3. Курская область (281,7 тыс. га, что на 145,7 тыс. га (51,7 %) больше, чем 3 года назад в 2016 году; доля в общих площадях 2019 года - 9,3 %);

4. Белгородская область (267,2 тыс. га, что на 57,2 тыс. га (21,4 %) больше, чем 3 года назад в 2016 году; доля в общих площадях 2019 года - 8,8 %);

5. Краснодарский край (203,5 тыс. га, что на 47,5 тыс. га (23,3 %) больше, чем 3 года назад в 2016 году; доля в общих площадях 2019 года - 6,7 %) (рис. 1).

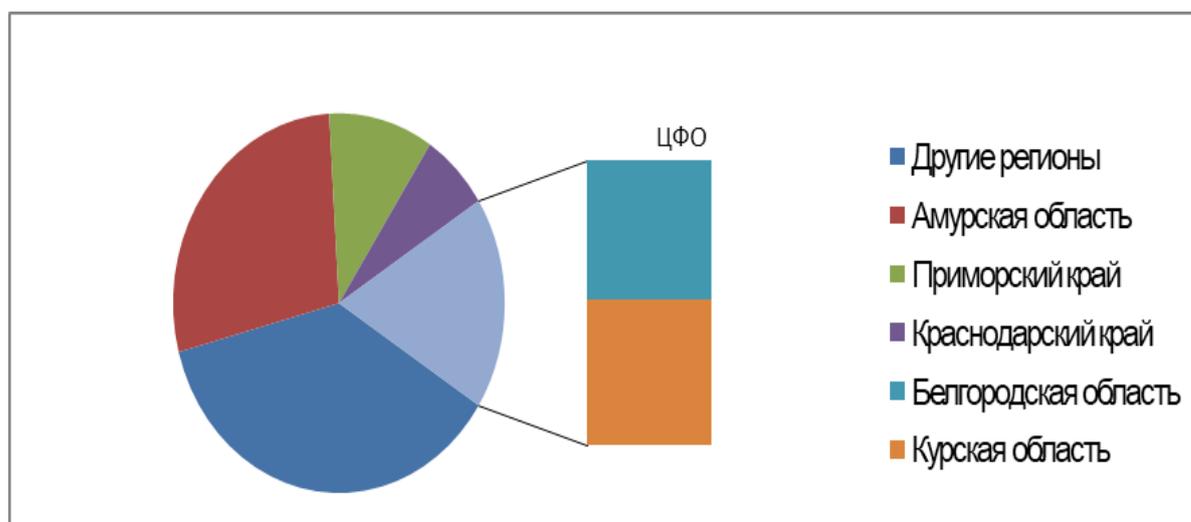


Рис. 1. Доля регионов-лидеров в суммарных посевных площадях сои в Российской Федерации в 2019 году, %. Общие посевные площади – 3039 тыс. га

Однако темпы роста спроса населения во всем мире на продукты питания характеризуются сокращающимися ресурсами в условиях возрастающего потребления мощности сельскохозяйственного производства и сопровождаются неотъемлемой составляющей вышеприведенного фактора: недостаточностью внимания к охране окружающей среды [2]. Последствия безжалостного «пестицидного прессинга» проявляются в первую очередь в виде интоксикации биосферы в целом, и в виде загрязнения токсичными остатками конечной продукции в частности, что в свою очередь несет ущерб здоровью всего человечества, а также нашим будущим поколениям.

Поэтому 3 августа 2018 года был принят закон «Об органической продукции»,

который подразумевает также создание инфраструктуры поддержки и развития органического сельского хозяйства, в том числе и органического земледелия, которые предполагают сознательную минимизацию использования неблагоприятных ресурсов (например, синтетических пестицидов, регуляторов роста) с целью поддержания здоровья почв и экосистем. Закон будет введен в действие с 01.01.2020 года [3].

В настоящее время электрофорез запасных белков семян применяют, в основном, для идентификации генотипов и изучения исходного селекционного материала [4, 5]. Однако этот метод можно применять для оценки влияния минеральных веществ и биологически активных препаратов на накопление белков в семенах растений сои.

Цель исследования – проведение сравнительного электрофоретического анализа белков семян перспективных сортов сои, взятых с растений, выращенных в варианте опыта с минимизированными дозами минерального питания, щадящими способами внесения и принадлежностью к классу биопрепаратов.

Условия, материалы и методы

Объектами исследования являлись семена сои урожая 2019 года нового раннеспелого сорта Осмонь (в Госреестре РФ с 2018 г) и среднераннего сорта Зуша (патентообладатель ФГБНУ ФНЦ ЗБК). Регион допуска у обоих сортов: Центрально-Черноземный (5 зона районирования сортов) [6].

Сорт Осмонь. Растение индетерминантного типа развития, средней высоты (70-90 см). У главного стебля опушение серое. Цветок белый. Форма листа ланцетовидная. Семена желтые. Вегетационный период длится до 110 дней. Высота прикрепления нижнего боба – 12 см. Средняя масса 1000 семян – 128 г. Среднее содержание белка в семенах – 32 %, содержание масла – 23 %. Урожайность средняя/максимальная – 20/36 ц/га [6, с. 15].

Сорт Зуша. Растение полудетерминантного типа развития, средней высоты (67 см). У главного стебля опушение рыжевато-коричневое. Цветок фиолетовый. Боковой листочек сложного листа заостренно-яйцевидный. Семена желтые со светло-коричневым рубчиком. Фаза начала цветения варьирует от раннего до среднего в зависимости от условий выращивания. Вегетационный период длится до 110 дней. Высота прикрепления нижнего боба – 13 см. Семена среднего размера, средняя масса 1000 семян – 159 г.

Среднее содержание белка в семенах – 34 %, содержание масла – 24,4 %. Урожайность средняя/максимальная – 18,8/37,5 ц/га. Устойчивость сорта к заболеваниям (поражение болезнями листьев и бобов не обнаруживается) [6, с. 12].

Схема постановки эксперимента представлена ниже:

К (контроль) – семена, полученные в результате использования технологии выращивания, в которой не применялись средства защиты и элементы минерального питания в предпосевном периоде и в ходе всего вегетационного периода;

В (опытный вариант) – семена, полученные в результате использования технологии выращивания, в которой применялась предпосевная обработка семенного материала фунгицидным протравителем Скарлет, МЭ + аминокислотным биостимулятором Биостим старт в дозе 0,4 л/т + 1,0 л/т (заблаговременно, за 10 дней до посева) и в день посева микробиологическим инокулянтom Ризоформ+Статик в дозе 3,0 + 0,85 л/т (базовая предпосевная обработка семенного материала) + листовые (внекорневые) подкормки в фазы 1-3 тройчатых листа и бутонизации-начала цветения удобрением-биостимулятором с микроэлементами для масличных, бобовых культур Биостим Масличный + микроудобрением Интермаг Профи Стручковые и бобовые в дозе 1,0 л/га + 1,0л/га.

Все используемые препараты отечественного производства характеризуются минимизированными дозами внесения на 1 обрабатываемую единицу [7, с.38-39, с. 192-193, с. 202-204, с. 206-207]. Используемые агроприемы внесения микробиоминеральных комплексов в экспериментальной технологии характеризуются экономичностью, экологичностью и максимальной эффективностью [8], что соответствует условиям ведения органического земледелия.

Фазы роста и развития растений сои в период выращивания по данным ЦГСМ (г. Орел) характеризуются по уровню гидротермического коэффициента по Г.Т. Селянинову (ГТК) [9] как достаточно увлажненные и слабо засушливые (ГТК = 1,18-1,42), поэтому в целом агроклиматические условия весенне-летнего периода для процессов онтогенеза можно считать оптимальными. Явных абиотических стрессовых явлений, которые могли бы спровоцировать полиморфизм [10, 11], не наблюдалось.

Для оценки влияния обработок использовали стандартный арбитражный метод выделения и электрофоретического разделения белков семян двудольных растений ISTA [12]. Белки экстрагировали из муки в течение 20 часов при температуре 3-4°C с помощью электродного буфера (трис, глицин, додецилсульфат натрия), pH 8.3. После

центрифугирования 10 мкл экстракта переносили в ячейку планшетки, где смешивали с равным объемом буфера нанесения (додецилсульфат натрия, трис-НСI, глицерин, меркаптоэтанол, бромфеноловый синий). Концентрация разделяющего геля – 12,5%, концентрирующего – 5%.

Спектры всех образцов сравнивались между собой, а также со спектром сои Ланцетной. Интенсивность компонентов спектра оценивали как: 1 – слабую, 2 – интенсивную и 3 – очень интенсивную. Относительную подвижность полипептидов анализировали по «соевой» шкале [12].

Анализ содержания белка проводили по методу Кьельдаля (ГОСТ Р 32044.1-2012) [13] на приборе UDK-159 (Velp Scientifica, Италия).

Результаты и обсуждение

У растений сои очень велика потребность в элементах питания из внешних ресурсов после появления всходов.

Молибден и бор влияют на величину и активность симбиотического аппарата сои, в том числе и на эффективность бобово-ризобияльного симбиоза. Поэтому до инокуляции семян сои микробиологическим удобрением Ризоформ (соя) за 10 дней до посева была проведена предпосевная обработка посадочного материала аминокислотным биостимулятором, в своем составе, в том числе содержащим Мо (0,01 %) и В (0,1 %). Препарат Биостим Старт является стимулятором прорастания и развития корневой системы, так как помимо вышеперечисленных микроэлементов содержит также P₂O₅ (5 %), данный элемент растениям сои необходим в период от всходов до ветвления.

Микробиологическое удобрение Ризоформ+Статик содержит бактерии, специфичные для растений сои, вида *Bradyrhizobium japonicum*. Инокуляция семян в данном случае не только способствует повышению активности симбиотической (азотфиксации) с целью обеспечения растений сои азотным питанием в критические фазы роста и развития, но и обеспечивает пополнение почвенных запасов экологически безопасным восстановленным азотом, включенным в состав биомассы почвенных микроорганизмов, для последующих культур севооборота.

В фазу 1-3 тройчатых листьев растения сои нуждаются в азоте и калии, в период от цветения до налива семян – в NPK. Поэтому в эти этапы онтогенеза были проведены 2 листовые (внекорневые) подкормки препаратами Интермаг Профи Стручковые и бобовые

и Биостим Масличный, содержащими как азот (15 %), так и в том числе, Со (0,022 %) и Мо (0,056 %) с целью интенсификации симбиотического процесса.

Концентрированное комплексное жидкое микроудобрение Интермаг Профи Стручковые и бобовые разработано с учетом питательных требований в минеральных элементах масличных культур, входящие в состав микроэлементы находятся в легкоусвояемой для растений хелатной форме.

Аминокислотные биостимуляторы линии Биостим не только поддерживают питательный баланс в период прорастания, на первоначальном этапе развития проростка и в период вегетации растений, но и защищают от воздействия абиотических и биотических стрессов [7].

На содержание сырого протеина оказала положительное влияние экспериментальная технология с использованием биомикропрепаратов (рис. 2).



Рис. 2. Растения сои сорта Зуша: справа – предпосевная обработка семян сои и внекорневые (листовые) подкормки вегетирующих растений, слева – контроль

Полученные данные подтверждают возможность сбора сырого протеина с 1 га от 1162,5 до 1451,6 кг в зависимости от сорта (табл. 2).

Таблица 2. Влияние препаратов фирмы «Щелково Агрохим» на содержание сырого протеина в семенах сои

Варианты опыта	Сорта сои			
	Зуша		Осмонь	
	в семенах, %	кг/га	в семенах, %	кг/га
Контроль	38,5	1378,3	37,5	1162,5
Экспериментальная технология	40,1	1451,6	38,6	1223,6

В ходе исследования были изучены спектры белков семян сои сортов Осмонь и Зуша (рис. 3 и 4).

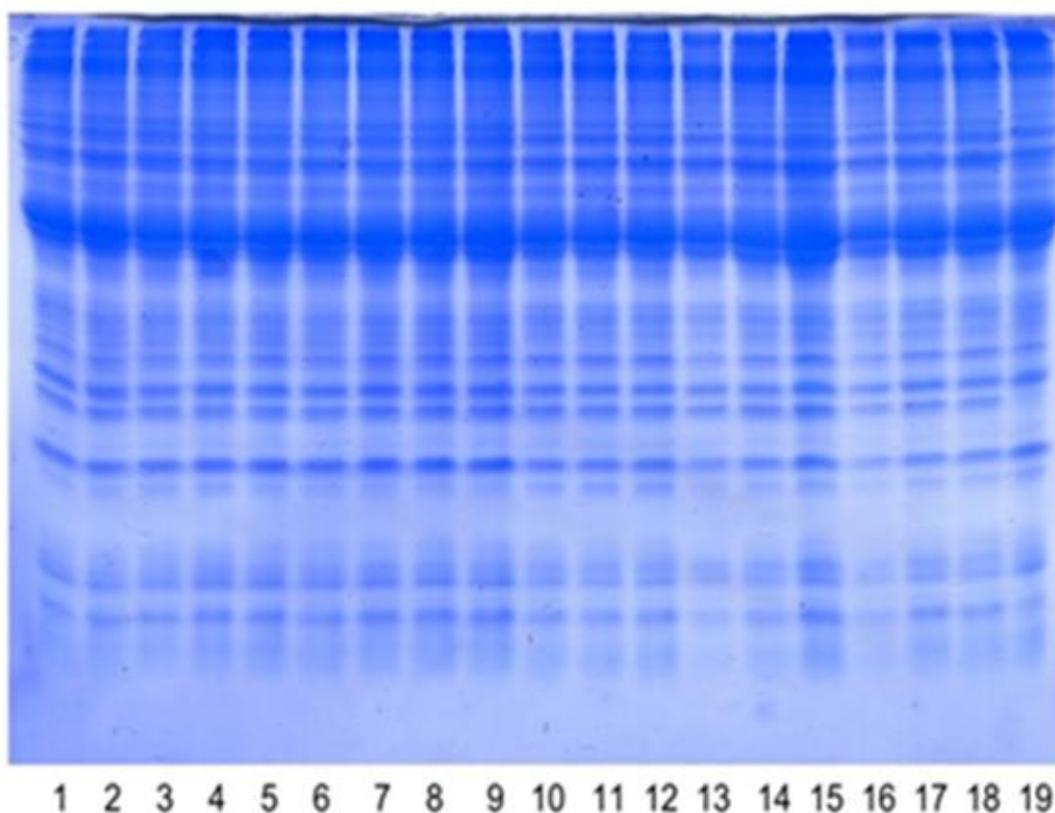


Рис. 3. Электрофоретические спектры белков семян сои сорта Осмонь, где расположение дорожек на геле (слева направо): 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 – контроль; 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 – опытный вариант; 19 – сорт Ланцетная

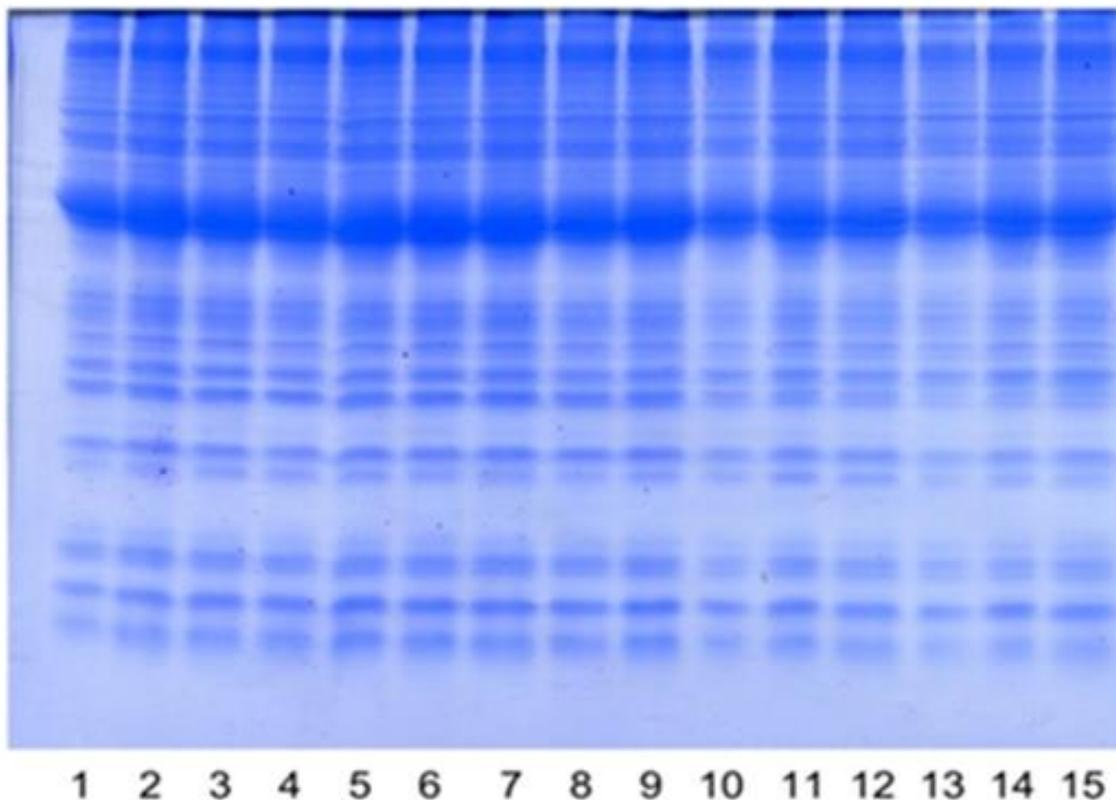


Рис. 4. Электрофоретические спектры белков семян сои сорта Зуша, где расположение дорожек на геле (слева направо) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 – контроль; 10, 11, 12, 13, 14, 15 – опытный вариант

При проведении SDS-PAGE электрофореза запасные белки сои сортов сои Осмонь и Зуша в полиакриламидном геле разделились на 68 компонентов различной интенсивности окрашивания (табл. 3).

Всего в спектрах присутствовало 13, 12, 43 компонентов с интенсивностью окрашивания 1, 2, 3 соответственно. Электрофоретические спектры сортов сои Осмонь и Зуши не имели полиморфных компонентов и, поэтому, характеризовались идентичным составом белковых спектров. Применение биомикропрепаратов у исследованных сортов не приводило к изменению позиций компонентов и интенсивности их окрашивания. Идентичность белковых спектров у семян сои, полученных в опытном и контрольном вариантах, указывает на отсутствие отрицательного влияния используемых в опыте биомикропрепаратов на накопление белков в семенах и качество зерна в целом.

Таблица 3. Компонентный состав электрофоретических спектров сортов сои Осмонь и Зуша в опытном и контрольном вариантах опыта

Компонент	Осмонь, Зуша		Компонент	Осмонь, Зуша	
	Опытный вариант	Контроль		Опытный вариант	Контроль
4	1	1	45	3	3
5	1	1	48	3	3
8	2	2	49	3	3
9	1	1	50	3	3
10	3	3	51	3	3
11	3	3	52	3	3
12	3	3	53	3	3
13	3	3	55	1	1
14	3	3	56	3	3
15	3	3	58	2	2
16	3	3	59	1	1
18	3	3	60	2	2
19	3	3	64	1	1
20	3	3	65	1	1
21	3	3	68	2	2
22	1	1	70	2	2
23	3	3	72	3	3
24	3	3	75	2	2
25	3	3	85	3	3
26	3	3	86	3	3
27	2	2	87	3	3
28	3	3	89	3	3
29	2	2	90	3	3
31	3	3	91	3	3
32	3	3	92	3	3
33	3	3	93	3	3
34	3	3	94	3	3
36	2	2	95	1	1
38	3	3	96	1	1
39	3	3	97	1	1
41	1	1	98	1	1
42	3	3	100	2	2
43	3	3	103	2	2
44	3	3	105	2	2

Всего в спектрах присутствовало 13, 12, 43 компонентов с интенсивностью окрашивания 1, 2, 3 соответственно. Электрофоретические спектры сортов сои Осмонь и Зуши не имели полиморфных компонентов и, поэтому, характеризовались идентичным составом белковых спектров. Применение биомикропрепаратов у исследованных сортов

не приводило к изменению позиций компонентов и интенсивности их окрашивания. Идентичность белковых спектров у семян сои, полученных в опытном и контрольном вариантах, указывает на отсутствие отрицательного влияния используемых в опыте биомикропрепаратов на накопление белков в семенах и качество зерна в целом.

Выводы

Таким образом, положительное влияние на количественное содержание сырого протеина оказала экспериментальная технология с использованием биомикропрепаратов, результаты подтверждают возможность сбора сырого протеина с 1 га от 1162,5 до 1451,6 кг в зависимости от сорта. Качественный анализ с помощью электрофореза выявил у сортов сои Осмонь и Зуша наличие 68 компонентов различной интенсивности окрашивания в опытном и контрольном вариантах. В опытном и контрольном вариантах опыта зафиксировано отсутствие полиморфизма по наличию и интенсивности окрашивания компонентов белков. Полученные результаты свидетельствуют о том, что используемые биомикропрепараты отечественного производства не оказывают негативного влияния на накопление белков и качество белкового комплекса семян исследуемых сортов сои.

Список использованных источников

1. Бельшкіна, М.Е. Проблема производства растительного белка и роль зерновых бобовых культур в ее решении // Природообустройство. - 2018. - № 2. - С. 65-73.
2. Хрулев, А.А. Тенденции развития и экономические аспекты производства горохового протеина / А.А. Хрулев, Н.А. Бесчетникова, И.А. Федотов // Пищевая промышленность. - 2016. - № 4. - С. 24-29.
3. Федеральный закон Российской Федерации № 280-ФЗ «Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» (2018). Принят Государственной Думой 25.07.2018 г. Одобрено Советом Федерации 28.07.2018 г. Подписан Президентом РФ 03.08.2018 г.
4. Бобков, С.В. Компонентный состав электрофоретических спектров запасных белков межвидовых гибридов гороха / С.В. Бобков, Т.Н. Лазарева // Генетика. - 2012. - №1. (Т.48.). - С. 56-61.
5. Бобков, С.В. Получение межвидовых гибридов для интрогрессивной селекции гороха / С.В. Бобков, Т.Н. Лазарева // Экологическая генетика. - 2015. - № 3 (Т. XIII). - С. 40-49.

6. Семена зернобобовых, масличных и зерновых культур // Каталог АО «Щелково Агрохим»: АО «Щелково Агрохим», 2018. - 40 с.
7. Щелково Агрохим // Каталог АО «Щелково Агрохим»: АО «Щелково Агрохим», 2017. - 235 с.
8. Зубарева, К.Ю. Микробиопрепараты в технологии возделывания культур в условиях стресса / К.Ю. Зубарева, П.В. Ятчук // Геоэкологические проблемы современности и пути их решения: Мат. I Всероссийской научно-практической конф., посвященной 100-летию ОГУ им. И.С. Тургенева. Орел, 2019. - С. 117-120.
9. Гулинова Н. В. Методы агроклиматической обработки наблюдений. Л.: Гидрометеиздат, 1974. - 85 с.
10. Соломенцева, А.С. Внутривидовой полиморфизм шиповников в условиях засушливой зоны как фактор повышения биоразнообразия урбанизированных территорий // Наука. Мысль: электронный периодический журнал. - 2016. - Т.6. № 7(1). - С. 117-127.
11. Стрессовые условия внешней среды как причина генетических рекомбинаций у цветковых растений на примере видов сои культурной *Glycinemax* (L.) Merr., сои уссурийской *G. soja* Sieb. et Zucc. и льна обыкновенного *Linum usitatissimum* L. / С.В. Зеленцов, Е.В. Мошненко, Л.В. Цаценко, В.С. Зеленцов // Научный диалог. – 2014, - № 1 (25). - С. 14-29.
12. Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян / В.Г. Конарев [и др.]; [отв. ред. В.Г. Конарев]. СПб.: ВИР, 2000. – 186 С.
13. ГОСТ Р 32044.1-2012 (ISO 5983-1:2005) Корма, комбикорма, комбикормовое сырьё. Определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина. Часть 1. Метод Къельдаля. Введен. 2014-07-01. М.: Изд-во Стандартиформ, 2014. - 11 с.

Цитирование:

Селихова Т.Н., Зубарева К.Ю., Ятчук П.В., Расулова В.А. Исследование влияния минерального питания на биохимические свойства семян сои // АгроЭкоИнфо. – 2020, №3. – http://agroecoinfo.narod.ru/journal/STATYI/2020/3/st_303.pdf.