

The greatest number of weeds was noted in the control in the crop rotation and permanent crops. According to the options for applying pure manure, an average degree of weediness of crops was found, manure together with NPK and single N caused a higher weediness in the grain plot both in terms of crop rotation and on permanent crops in comparison with the NPK background. This situation is typical for the crop both in crop rotation and in permanent cultivation. At the same time, permanent crops were more clogged. The largest number of perennial representatives of weeds was found in permanent crops of winter rye and barley on a lime background according to the options for applying organic and organo-mineral fertilizers, as well as on control options.

References

1. Мазиров, М. А. Длительный полевой опыт РГАУ-МСХА: сущность и этапы развития [Текст] / М. А. Мазиров, А. Ф. Сафонов // Известия ТСХА. - 2010. - Выпуск 2. - С. 66-75.
2. Сафонов, А. Ф. Структура сорного компонента агрофитоценоза и урожайность озимой ржи при длительном применении удобрений и известкования в бессменных посевах и севообороте [Текст] / А. Ф. Сафонов, В. И. Лабунский // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. - 2004. - № 3. - С. 21-32.
3. Васько, В. Т. Технология возделывания зерновых культур в Нечерноземной зоне России [Текст] / В. Т. Васько, А. И. Загробский, З. М. Нечипорук. - СПб.: «Профи - ИНФОРМ», 2004. - 128 с.
4. Матюк, Н. С. Агроэкологические основы севооборотов: учебное пособие [Текст] / Н. С. Матюк, В. А. Николаев, В. Д. Полин, О. А. Савоськина. - М.: Изд-во РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева, 2011. - 266 с.
5. Беленков, А. И. Оценка технологии возделывания ячменя в полевых опытах РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева [Текст] / А. И. Беленков, А. С. Пискунова, А.-Г. Аммар Аббас Убайд // Современные тенденции в научном обеспечении агропромышленного комплекса: коллективная монография. - Иваново: ПресСто, 2020. - Т. 2. - С. 90-95.

УДК 57.044 : 577.151.42

ВЛИЯНИЕ НИТРАТА СВИНЦА НА УДЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ РИБОНУКЛЕАЗЫ ПРОРОСТКОВ СОИ

Мартыненко Наталья Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, ФГБНУФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», mvn@vniiso.ru

***Аннотация:** Исследовано влияние нитрата свинца на рибонуклеазную активность сои сорта Лидия и установлено её увеличение при проращивании в течение одних, трех и пяти суток, на седьмые сутки было отмечено ингибирующее действие нитрата свинца на РНКазную активность.*

Ключевые слова: *Glycine Max*, рибонуклеаза, тяжелые металлы, свинец, окислительный стресс, биохимическая адаптация.

Введение. Соя (*Glycine max* (L.) Merrill) является важной сельскохозяйственной культурой на Дальнем Востоке, а Амурская область считается лидером производства сои в РФ, на ее территории располагается 38 % посевов сои страны [1]. Все экосистемы Амурской области загрязнены различными загрязняющими веществами, в том числе тяжелыми металлами (ТМ). Из ТМ приоритетными загрязнителями считаются ртуть, свинец, кадмий, например их техногенное накопление в окружающей среде идет высокими темпами. В сельскохозяйственном производстве ведущими источниками поступления ТМ считаются пестициды, минеральные удобрения, химические мелиоранты [2]. Свинец оказывает ингибирующее воздействие на жизнедеятельность растений. Проникая сквозь корневую систему, он аккумулируется в различных органах и тканях растений, но в большей степени в корнях, собственно, что приводит к торможению роста растений. Интоксикация ТМ вызывает в растительной клетке образование активных форм кислорода, что приводит к повреждению нуклеиновых кислот, денатурации белков и интенсификации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Определение малонового диальдегида (МДА) применяется как показатель активности процессов ПОЛ [3].

Гидролитические ферменты играют важную роль в адаптации растений к изменяющимся природным условиям среды. К ферментам с широкой субстратной специфичностью относится рибонуклеаза (РНКаза) (К.Ф. 3.1), её выделяют среди первых защитных энзимов, обладающих способностью нейтрализовать действие большого спектра вирусных, бактериальных и других инфекций [4].

Цель работы – изучить влияние нитрата свинца на удельную активность рибонуклеазы проростков сои.

Объектом исследования служили семена сои сорта Лидия. Семена проращивали в термостате при температуре 25 ± 2 °С в течение одних, трех, пяти и семи суток. Интоксикация нитратом свинца проводилась внесением добавки соответствующей соли в среду до установленной концентрации в почве, которая составляет 17 мкМ. Контролем служили пророщенные семена, без добавления соответствующих солей. Экстракты белков семян сои, гомогенизировали и экстрагировали в фарфоровых ступках, удельную активность рибонуклеаз определяли спектрофотометрическим методом, белок – биуретовым методом. Интенсивность ПОЛ определяли по методике, основанной на реакции между МДА и тиобарбитуровой кислотой. Математическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10, графическое представление данных – Excel (2010). Результаты выражали как среднее ($n = 6$) \pm стандартное отклонение, различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$ [5].

Тяжелые металлы в большинстве случаев вызывают увеличение интенсивности ПОЛ, которое выражается в увеличении концентрации МДА в клетках. В ходе наших исследований было установлено, что влияние нитратом свинца на проростки сои, вызывает увеличение содержания уровня МДА, относительно контрольных образцов. На третьи сутки был отмечен максимальный рост концентрации МДА, в 3 раза по сравнению с контролем.

При анализе удельной активности РНКаза было установлено, её увеличение при интоксикации нитратом свинца, но следует отметить, что на 7 сутки произошло

уменьшение РНКазной активности, относительно контроля. При этом удельная активность РНКаз увеличилась на 1 сутки в 1,5, 3 сутки – 2,2 и 5 сутки – 4 раза, а на 7 сутки наблюдали ее уменьшение в 3 раза.

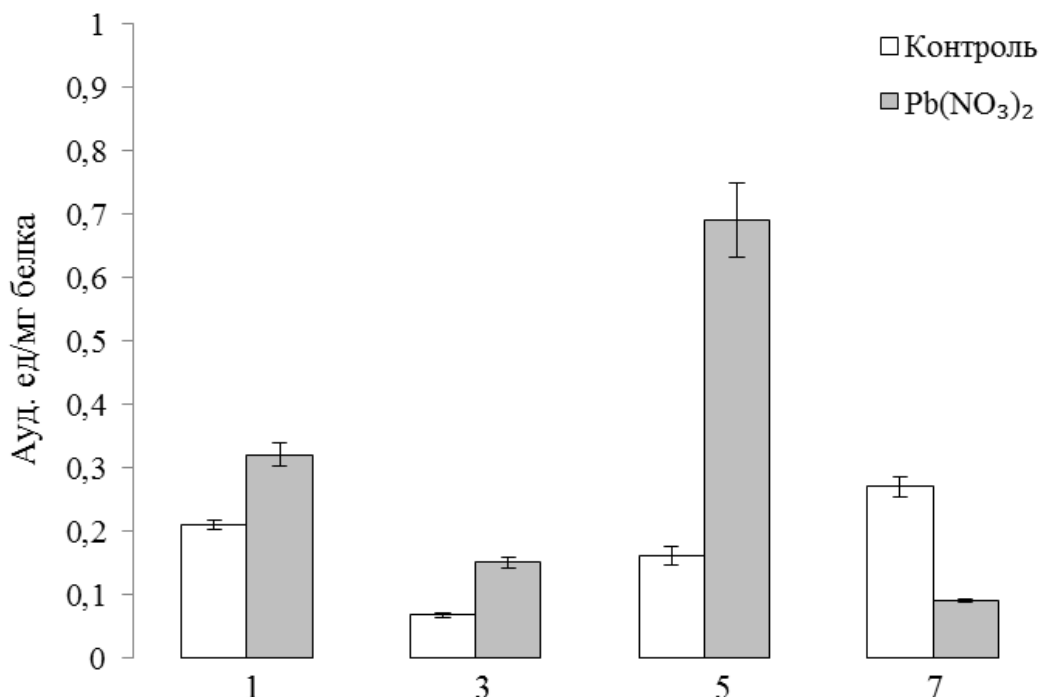


Рис. 1. Удельная активность РНКаз (ед/мг белка) проростков культурной сои, выращенных в условиях интоксикации Pb(NO₃)₂ – нитрат свинца, 1, 3, 5, 7 – время воздействия (сутки).

Результаты исследований показывают, что нитрат свинца, в концентрации 17мкМ, индуцирует окислительный стресс разной силы, который выражается в генерации АФК. Стоит отметить, что влиянии свинца неорганической природы привело, к увеличению рибонуклеазной активности сои сорта Лидия при проращивании в течение одних, трех и пяти суток, на седьмые сутки было отмечено ингибирующее действие нитрата свинца на РНКазную активность.

Библиографический список

1. Синеговский, М. О. Современное состояние производства сои в Амурской области [Текст] / М. О. Синеговский // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. - 2015. - Вып. 3 (163). - С. 86-90.
2. Димиденко, Ж. А. Содержание тяжелых металлов в почвах и продукции растениеводства южной зоны Среднего Приамурья [Текст] / Ж. А. Димиденко, С. Г. Харина // Электронный журнал «ИССЛЕДОВАНО В РОССИИ» [Электрон.ресурс]. - Режим доступа: <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2005/039.pdf> – 28.05.2021.
3. Колесниченко, В. В. Влияние высоких концентраций Cd²⁺ на перекисное окисление липидов и функцию антиоксидантной системы этиолированных побегов пшеницы (*Triticum aestivum*) и ржи (*Secale cereale*) [Текст] / В. В. Колесниченко, А. В. Колесниченко // Журнал стресс-физиологии и биохимии. - 2012. - № 8 (4). - С. 5-15.
4. Лаврентьева, С. И. Рибонуклеазная активность проростков сои в условиях

окислительного стресса [Текст] / С. И. Лаврентьева и др. // Вестник Камчатского государственного технического университета. - 2019. - № 47. - С. 79-85.

5. Лаврентьева, С. И. Влияние *Septoria Glycines hemmi* на активность гидролитических ферментов сои сорта Лидия [Текст] / С. И. Лаврентьева и др. // Достижение науки и техники АПК. - 2020. - Т. 34. - № 8. - С. 33-38.

УДК 635.655:632.4

АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ СЕМЯН СОИ В УСЛОВИЯХ ЗАРАЖЕНИЯ *CERCOSPORA SOJINA* HARA

Блинова Анастасия Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои, baa@vniiso.ru

Аннотация: В статье представлены данные о результатах удельной активности полифенолоксидазы в здоровых семенах и семенах, зараженных *Cercospora sojina* Hara. Установлено, что показатели удельной активности ПФО зараженных семян были значительно ниже значений в контрольных семенах, за исключением у семян сои сортов Кружевница и Умка.

Ключевые слова: соя, полифенолоксидаза, удельная активность, антиоксиданты, *Cercospora sojin*, церкоспороз.

Соя (*Glycine max* (L.) Merrill) одна из важнейших зернобобовых и масличных культур мирового земледелия, и ее производство в последние десятилетия постоянно растет [1]. Соя часто подвергаются действию стрессоров, особенно в летний период вегетации – неблагоприятных факторов окружающей среды. Фактически, общей реакцией на стресс, вызывающий все эти неблагоприятные условия, является окислительный стресс [2]. В этих условиях стресса обычно происходит быстрое и кратковременное производство огромного количества активных форм кислорода (АФК) [3]. Одним из факторов, влияющих на быстрое и преходящее производство огромных количеств АФК, является биотический стресс. К биотическим стрессорам относятся патогены – болезнетворные грибы, бактерии и вирусы, а также растительноядные насекомые.

Полифенолоксидаза (ПФО, ЕС 1.10.3.1) – защитный фермент, который играет важную роль в деградации фенолов и флавоноидов сельскохозяйственных культур и представляет собой важную защитную систему растений от вторжения патогенов [4]. Ферментативное потемнение – это цветовая реакция, происходящая в растениях, в том числе и в сельскохозяйственных культурах, вследствие окисления при послеуборочной обработке и хранении. Это отрицательно сказывается на цвете, вкусе, питательных свойствах и сроках хранения пищевых продуктов. Потемнение обычно вызывается полифенолоксидазами (ПФО), следующими за повреждением клеток, вызванным старением, ранением и нападением вредителей и патогенов [5]. В стрессовых условиях ее активность в клетке возрастает, что препятствует распространению АФК [1].

Была поставлена цель – изучить удельную активность полифенолоксидазы сортов сои селекции Всероссийского НИИ сои, зараженных патогеном *Cercospora sojina* Hara.

Исследование проводилось на базе ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои в лаборатории биотехнологии. В качестве объектов исследования были использованы семена сои сортов, выращенных на полях ФГБНУ ВНИИ сои (с. Садовое) в 2019 году. Выбранные сорта отличаются по скороспелости и устойчивости к церкоспорозу: Топаз (ультраскороспелый, устойчивый), Кружевница и Сентябринка (скороспелые, высокоустойчивые), Золушка и Лазурная (среднеспелые, высокоустойчивые), для скороспелого сорта Веретейка и среднеспелого сорта Даурия устойчивость к церкоспорозу мало изучена.

Определение удельной активности ПФО проводили спектрофотометрическим методом А.И. Ермакова, который основан на измерении оптической плотности продуктов реакции, образовавшихся при окислении пирокатехина за определенный промежуток времени [6]. Содержание белка определяли по методу Лоури, основанным на измерении интенсивности окраски раствора, в котором осуществляется цветная реакция на белок, с тирозиновым и цистеиновым радикалами аминокислотных остатков, входящих в состав полипептидной цепи белка.

В результате проведенных исследований установлено, что значение удельной активности ПФО в контрольных образцах сои сильно варьирует от вида сорта в диапазоне от 1,71 до 3,78 ед./мг белка. Самая низкая активность была обнаружена в семенах сортов Веретейка (1,56 ед./мг белка) и Кружевница (1,53 ед./мг белка), самая высокая в семенах сорта Лазурная (3,78 ед./мг белка).

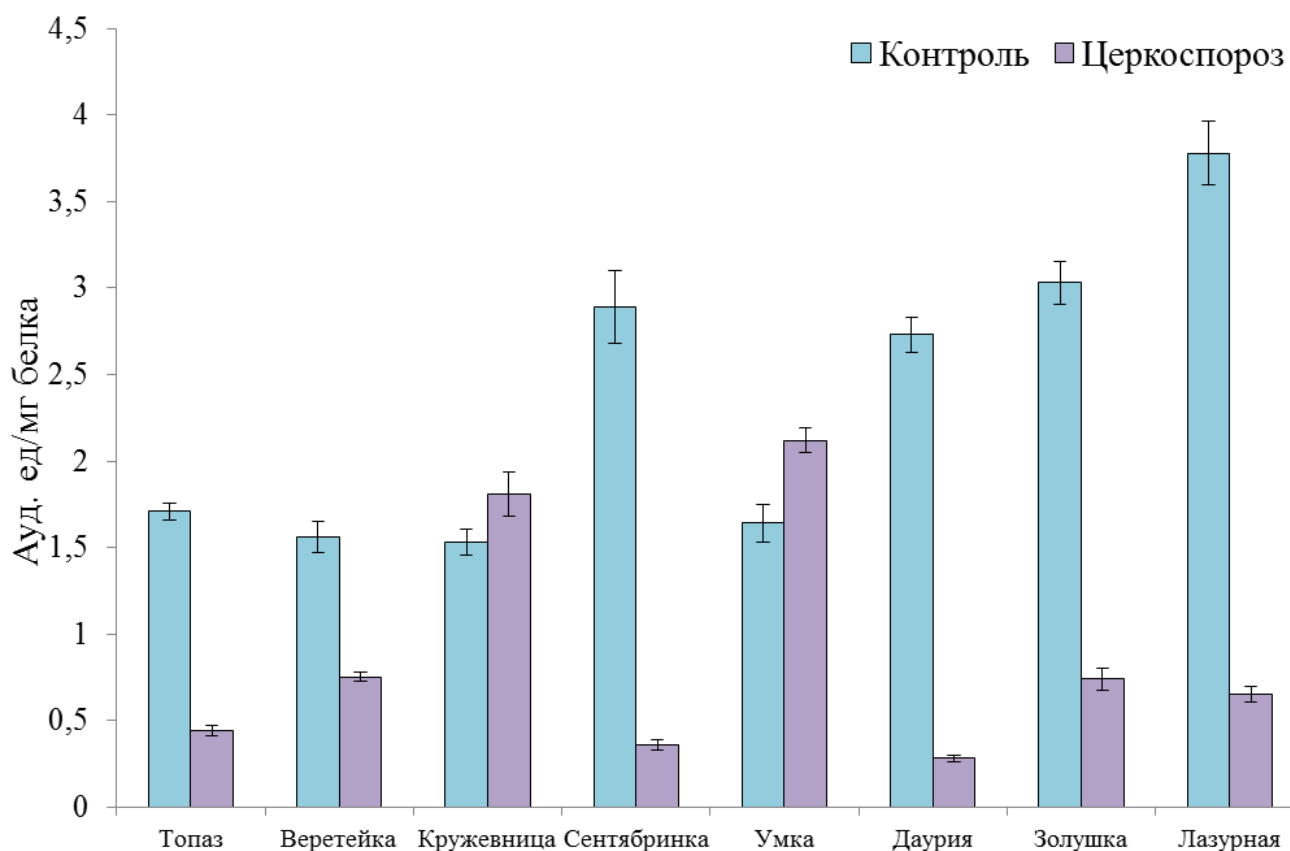


Рис. 1. Диаграмма удельной активности ПФО контрольных и зараженных *Cercospora soja* Нара семян сои

Установлено, что удельная активность ПФО значительно снизилась в зараженных патогеном семенах сои по сравнению с контрольными образцами для изученных сортов Топаз, Веретейка, Сентябринка, Даурия, Золушка, Даурия, что характеризует невысокую устойчивость данных сортов к заболеванию *Cercospora sojina* Nara. Для сортов Кружевница и Умка значения удельной активности ПФО, наоборот, в зараженных семенах превысили значения фермента в контрольных образцах.

В результате полученных данных можно сделать вывод, что активность изученного фермента варьирует в зависимости от вида сорта сои и от влияния патогена *Cercospora sojina* Nara, значит, выбранный фермент является очень отзывчивым на воздействие биотического фактора, его можно использовать в качестве тест-фермента.

Библиографический список

1. Авраменко, А. А. Оценка продуктивности и питательности смешанных посевов сои с однолетними злаковыми культурами в условиях приморского края [Текст] / А. А. Авраменко, Т. В. Наумова, О. В. Павлова // Вестник КрасГАУ. - 2020. - № 6 (159). - С. 56-61.

2. Damanik, R. I. Antioxidant activity of seedling growth in selected soybean genotypes (*Glycine max* (L.) Merrill) responses of submergence / R. I. Damanik, P. Marbun, L. Sihombing // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. - 2016. - № 41. - Pp. 012003.

3. Perez Piza, M. C. Improvement of growth and yield of soybean plants through the application of non-thermal plasmas to seeds with different health status / M. C. Perez Piza, L. Prevosto, P. E. Grijalba, C. G Zilli, E. Cejas, B. Mancinelli, K. B. Balestrasse // Heliyon. - 2019. - № 5. - Pp. e01495.

4. Кузнецова, В. А. Влияние гипо- и гипертермии на удельную активность ферментов класса оксидоредуктаз семян сои и множественность их форм [Текст] / В. А. Кузнецова, А. А. Блинова, Л. Е. Иваченко // Достижения науки и техники АПК. - 2020. - Т. 34. - № 8. - С. 39-44.

5. Taranto, F. Polyphenol Oxidases in Crops: Biochemical, Physiological and Genetic Aspects / F. Taranto, A. Pasqualone, G. Mangini, P. Tripodi, M. M. Miazzi, S. Pavan, C. Montemurro // International journal of molecular sciences. - 2017. - № 18. - С. 377.

6. Коробко, В. В. Физиология растений: большой практикум. Учебное пособие для студентов биологического факультета [Текст] / В. В. Коробко, М. Ю. Касаткин. - Саратов: Саратовский источник, 2017. - 120 с. - ISBN 978-5-91879-762-4.

УДК 577.113

ПРОБЛЕМЫ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОТОКОЛА ЭКСТРАКЦИИ ДНК ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Лебедев Илья Константинович, аспирант кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева, thisislebedevilya@yandex.ru

Аннотация: Основными требованиями к исследуемому материалу для различных молекулярных методов, таких как полимеразная цепная реакция (ПЦР), полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ), рестрикционное картирование, исследование генетических аномалий, генотипирование, различные диагностические и