

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН ФАСОЛИ ПРИ ОБРАБОТКЕ ПРЕПАРАТОМ ЭПИН-ЭКСТРА

**О.Г. ВОЛОБУЕВА**, кандидат биологических наук  
ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА им. К.А.ТИМИРЯЗЕВА

*В условиях полевого опыта с растениями фасоли сортов Гелиада и Шоколадница изучали эффективность инокуляции семян этих растений при обработке препаратом эпин-экстра. Показана сортовая реакция растений на обработку препаратом эпин-экстра: наибольшей отзывчивостью характеризовался сорт фасоли Гелиада. В клубеньках растений этого сорта наблюдалось увеличение содержания цитокининов (ЦК), площади и количества бактериоидов, включений волютина и снижение площади и количества включений поли-β-оксимасляной кислоты (ПОМ).*

**Ключевые слова:** фасоль, препарат эпин-экстра, ризоторфин, фитогормон, инокуляция, азотфиксация, включения поли-β-оксимасляной кислоты (ПОМ), волютин, бактериоиды.

Важным компонентом современных биотехнологий растениеводства является использование различных биопрепаратов и регуляторов роста. Использование регуляторов роста в повышении урожайности бобовых культур может рассматриваться в связи с активностью процессов азотфиксации. Эффективность данного приема, возможно, связана с тем, что клубеньковые бактерии продуцируют ростстимулирующие соединения. Функции биологически активных веществ, как гормонов-координаторов, обеспечивают растениям ростовую и метаболическую регуляцию и при правильной агротехнике – высокую продуктивность бобово-ризобиального симбиоза [1]. Регуляторы роста используются для ускорения прорастания семян, повышения урожайности, устойчивости к различным неблагоприятным факторам внешней среды [2]. В последнее время интерес исследователей вызывают регуляторы роста антистрессового действия. Одним из таких препаратов является эпин-экстра. Эпин-экстра – препарат группы brassinosteroidов (БС), стимулирует рост и развитие растений, повышает устойчивость к различным стрессовым факторам, является экологически безопасным, высокоэффективным препаратом [3, 4].

**Цель работы** – изучение влияния предпосевной обработки семян препаратом эпин-экстра и биопрепаратом ризоторфин на содержание фитогормонов в листьях, стеблях и корнях с клубеньками, эффективность симбиоза и ультраструктуру клубеньков растений фасоли разных сортов.

### Материал и методика исследований

Полевые опыты проводили в ФГБНУ ВНИИ зернобобовых и крупяных культур (Орловская область). Условия проведения опыта изложены ранее [5]. Объектами исследования были растения зерновой фасоли сортов Гелиада и Шоколадница. Семена растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница замачивали в течение 3 ч в растворе препарата эпин-экстра в концентрации  $10^{-6}$ М, затем подсушивали, перед посевом обрабатывали ризоторфином. Варианты опыта: 1 – обработка семян ризоторфином, 2 – обработка семян эпин-экстра на фоне инокуляции ризоторфином. Повторность 4-кратная, расположение вариантов рендомизированное. Ризоторфин (*Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, штамм 700) получен во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии (г. Санкт-Петербург). Эпин-экстра – фитогормон широкого диапазона действия, действующее вещество эпибрасинолид (ЭПБ). Препарат Эпин-экстра был приобретен во ВНИИА им. Д.Н. Прянишникова (г. Москва).

Содержание фитогормонов (индолилуксусная кислота – ИУК, цитокининов – ЦК, абсцизовой кислоты – АБК) в листьях, стеблях, корнях с клубеньками определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) по методике, разработанной в лаборатории регуляторов роста и развития сельскохозяйственных растений РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева [6]. Биологическую активность ГК (гибберелловая кислота)

определяли по росту гипокотилей салата сорта Берлинский, содержание – по калибровочной кривой, для построения которой использовали гибберелловую кислоту (Россия). Условия хроматографирования для определения фитогормонов изложены ранее [7]. Ошибка определения содержания фитогормонов не превышала 20 %. Содержание фитогормонов определяли в фазе цветения – период высокой азотфиксирующей активности фасоли. В процессе вегетации проводили фенологические наблюдения за динамикой роста и развития растений, учитывали массу и количество клубеньков. Активность нитрогеназы в клубеньках определяли на газовом хроматографе «Цвет-106» [8]. Для электронно-микроскопических исследований фиксацию клубеньков в глутаральдегиде проводили по методу [9]. Срезы получили на ультрамикротоме «LKB-3» (LKB, Швеция), контрастировали 1 %-ным водным раствором уранилацетата и 0,2 %-ным цитратом свинца. Их просматривали под электронным микроскопом «TEMSCAN 100CX2» (JEOL, Япония). Морфометрические исследования провели на приборе «MOP-VIDEOPLAN» фирмы (Reichert, Австрия), статистическую обработку результатов – с использованием программы Statistica for Microsoft Windows.

#### Результаты исследований

В результате проведенных исследований с растениями фасоли разных сортов, семена которых были обработаны ризоторфином и препаратом эпин-экстра, отмечено изменение содержания фитогормонов в вегетативных органах растений.

**Сорт Гелиада.** При обработке препаратом эпин-экстра содержание ИУК увеличивалось в листьях, стеблях и корнях с клубеньками, по сравнению с вариантом обработки только ризоторфином. Содержание ЦК уменьшалось в листьях, стеблях и повышалось в корнях с клубеньками почти в 4,2 раза. Содержание ГК уменьшалось, а АБК отсутствовала во всех органах растений в варианте с обработкой эпином-экстра, по сравнению с вариантом обработки только ризоторфином (таблица 1).

Таблица 1

#### Содержание фитогормонов (нг/г сырой массы) в растениях фасоли сортов Гелиада (верхняя строка) и Шоколадница (нижняя)

Вариант	Органы растений	ИУК	ЦК	ГК	АБК
Ризоторфин 1	Листья	5,3	116,3	6,92	10,3
	Стебли	5,7	271,5	4,7	10,3
		–	275,9	13,2	3,4
	Корни с клубеньками	–	449,5	4,8	6,9
13,3		31,0	22,1	20,6	
Эпин-экстра + ризоторфин 2	Листья	13,2	217,0	4,7	10,3
		11,9	77,5	4,8	–
	Стебли	12,2	260,4	14,9	–
		5,3	139,5	5,9	–
	Корни с клубеньками	5,4	313,9	4,7	–
		21,2	130,2	3,8	–
21,2	93,0	21,1	3,5		

*Примечание «прочерк» – содержание гормона ниже уровня чувствительности хроматографа*

Обработка препаратом эпин-экстра приводила к повышению надземной массы, высоты растений, количества и массы клубеньков и увеличению в них активности фермента нитрогеназы, по сравнению с вариантом обработки только ризоторфином (таблица 2).

Анализ ультраструктуры клубеньков растений фасоли показал, что в вариантах обработки препаратом эпин-экстра увеличивались площадь и количество бактериоидов, включений волютина и снижалась площадь и количество включений ПОМ (таблица 3, рис.).

Ризобии в процессе образования клубенька превращаются в бактериоиды, которые вместе с окружающей их симбиотической мембраной составляют симбиосому. Симбиотическая мембрана на стадии эффективной азотфиксации клубенька обеспечивает избирательность

транспорта метаболитов и ионов, участвует в реализации сигнальных механизмов различных внутриклеточных процессов в клетках ризобий и растений.

**Сорт Шоколадница.** Содержание ИУК увеличивалось во всех вегетативных органах в варианте с обработкой эпин-экстра. В этом варианте уровень ЦК не изменялся в листьях и уменьшался в стеблях и особенно корнях с клубеньками. Содержание ГК увеличивалось в листьях и корнях с клубеньками и не менялось в стеблях. АБК отсутствовала в листьях и стеблях. Её присутствие в незначительном количестве отмечено в корнях с клубеньками, по сравнению с вариантом обработки только ризоторфином (табл.1).

Обработка семян только ризоторфином приводила к увеличению надземной массы, высоты растений, массы корней с клубеньками, массы клубеньковой ткани и активности фермента нитрогеназы, по сравнению с вариантом обработки препаратом эпин-экстра (табл. 2).

Таблица 2

**Показатели роста и азотфиксирующая активность растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница**

Показатель	Гелиада		Шоколадница	
	ризоторфин	эпин-экстра	ризоторфин	эпин-экстра
Надземная масса, г/растение	15,9±1,03	18,2±4,07	13,2±1,07	9,9±3,10
Высота растения, см	33,5±0,50	37,7±6,10	30,5±1,50	24,5±5,00
Масса корней с клубеньками, г/растение	1,92±1,40	1,90±1,40	2,03±2,02	1,70±1,30
Количество клубеньков, шт/растение	10±1,2	17±4,1	23±1,5	18±4,2
Масса клубеньков, мг/растение	41±1,4	78±8,9	90±2,5	43±6,6
Активность нитрогеназы, мкг N/растение/ч	5,10±0,02	20,1±0,20	17,7±0,05	6,3±0,30

В варианте с обработкой только ризоторфином наблюдалось увеличение площади и количества бактериоидов и включений волютина и снижение площади и количества включений ПОМ (таб. 3, рис.).

Волютин служит запасным резервуаром фосфата, важного предшественника в синтезе АТФ и ДНК. Включения волютина – азот- и фосфорсодержащее вещество, относятся к группе полифосфатов, соединений с макроэргическими связями. Азотфиксация – это достаточно энергозатратный процесс, поэтому наличие гранул волютина можно рассматривать как один из возможных источников энергии этого процесса. Площадь и количество включений волютина было больше в тех вариантах, где наблюдали наибольшую азотфиксирующую активность в клубеньках растений фасоли.

ПОМ – это запасное вещество, эндогенный накопитель энергии и углерода прокариот. Наличие этого эндогенного резерва определяет большую пластичность метаболизма ризобий. Обычно при активной азотфиксации содержание ПОМ в клетках бактерий минимально, поскольку синтез и распад её при этом наиболее интенсивны. Роль ПОМ заключается в основном в регуляции использования фотоассимилятов, поступающих в бактериоиды и по содержанию полимера можно в определенной степени судить об обеспеченности бактериоидов углеводными субстратами [10]. Низкий уровень азотфиксации в клубеньках может определяться, неспособностью макросимбионта ассимилировать весь азот, фиксированный бактериоидами, то есть недостаточным транспортом связанного азота из клубеньков в надземную часть растения. Обычно депонирование ПОМ в клетках свидетельствует о невысоком уровне азотфиксации.

**Изменение ультраструктуры клубеньков фасоли**

Вариант	Площадь, мкм <sup>2</sup>			Количество, шт		
	бактероиды	ПОМ	волютин	бактероиды	ПОМ	волютин
Гелиада, ризоторфин	0,091 ± ± 0,003	0,033 ± ± 0,002	0,014 ± ± 0,0002	4,28 ± ± 0,14	1,62 ± ± 0,080	9,51 ± ± 0,37
Гелиада, эпин-экстра	0,47 ± ± 0,017	0,023 ± ± 0,001	0,018 ± ± 0,0004	23,56 ± ± 2,28	0,62 ± ± 0,100	10,41 ± ± 0,28
Шоколадница, ризоторфин	0,56 ± ± 0,028	0,023 ± ± 0,001	0,033 ± ± 0,0007	24,70 ± ± 1,93	1,09 ± ± 0,056	9,08 ± ± 0,37
Шоколадница, эпин-экстра	0,54 ± ± 0,013	0,031 ± ± 0,001	0,026 ± ± 0,0007	16,41 ± ± 1,05	1,69 ± ± 0,055	6,10 ± ± 0,22

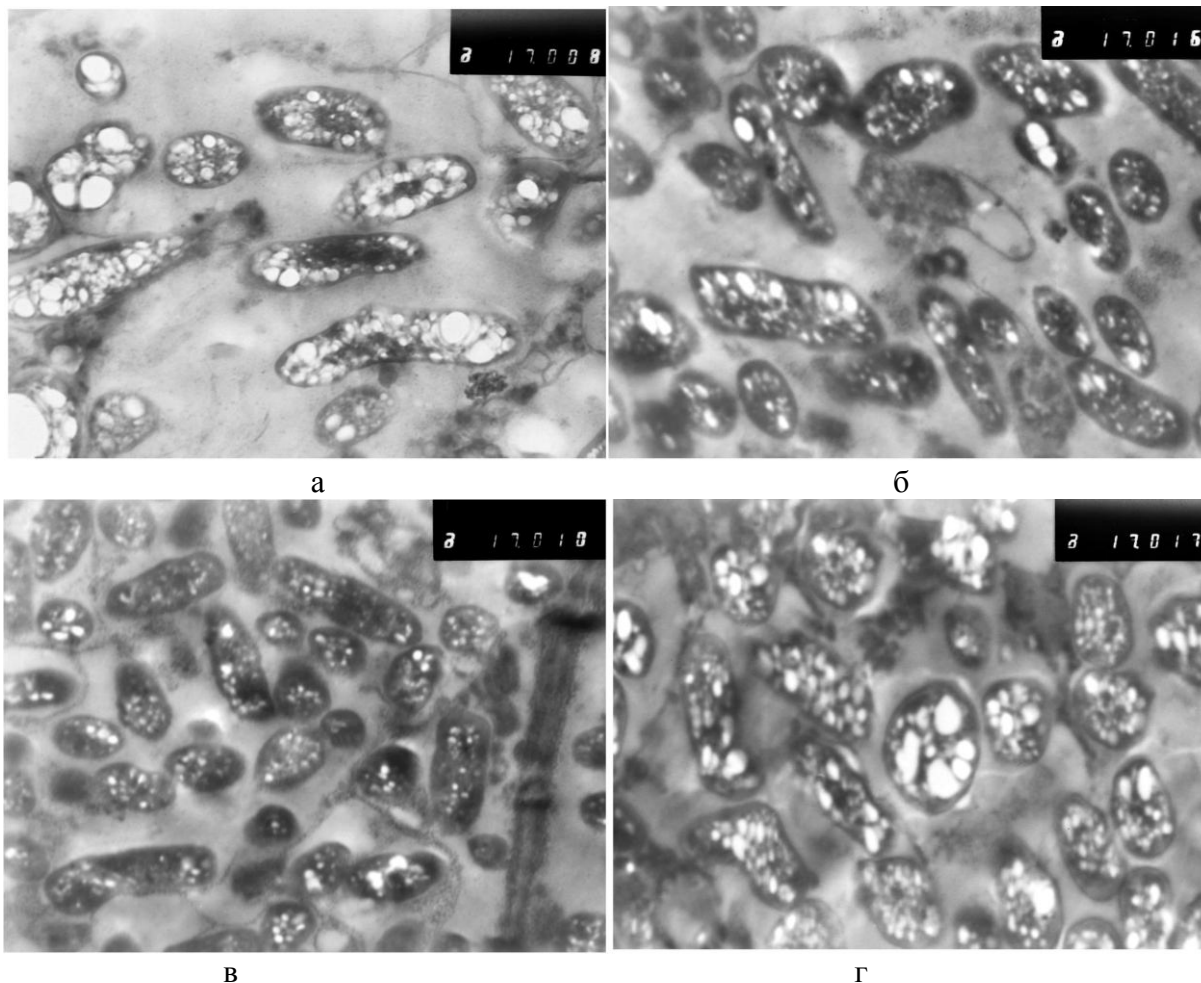


Рис. Ультраструктура клубеньков фасоли (увеличение 17000):

*а* – клубеньки фасоли сорта Гелиада, образованные при инокуляции семян ризоторфином;  
*б* – клубеньки фасоли сорта Гелиада, образованные при обработке семян препаратом эпин-экстра;  
*в* – клубеньки фасоли сорта Шоколадница, образованные при инокуляции семян ризоторфином;  
*г* – клубеньки фасоли сорта Шоколадница, образованные при обработке семян препаратом эпин-экстра.

Таким образом, эффект применения ризоторфина и препарата эпин-экстра зависит от сорта растения. Обработка семян препаратом эпин-экстра в комбинации с ризоторфином повышала содержание ауксинов во всех вегетативных органах растений фасоли обоих сортов. У растений фасоли сорта Гелиада совместная обработка эпином-экстра на фоне инокуляции увеличивала содержание цитокининов в корнях с клубеньками, площадь и количество бактериоидов, включений волютина, активность фермента нитрогеназы и приводила к снижению площади и количества включений поли-β-оксималяной кислоты (ПОМ). У

растений фасоли сорта Шоколадница в большей степени проявилось действие ризоторфина: под его влиянием происходило увеличение ЦК в стеблях и корнях с клубеньками, площади и количества бактериоидов, включений волютина, активности фермента нитрогеназы и снижение площади и количества ПОМ.

#### Выводы

1. Установлена сортовая реакция растений фасоли на обработку препаратом эпин-экстра: наибольшей отзывчивостью характеризовался сорт фасоли Гелиада. У растений фасоли сорта Шоколадница в большей степени проявилось действие ризоторфина.

2. Обработка семян растений фасоли сорта Гелиада препаратом эпин-экстра на фоне инокуляции увеличивала показатели роста, количество и массу клубеньков, нитрогеназную активность. При этом наблюдали увеличение содержания ИУК в листьях, стеблях и корнях с клубеньками, ЦК – в корнях с клубеньками.

3. У растений фасоли сорта Шоколадница проявилось протекторное действие ризоторфина. В клубеньках растений этого сорта наблюдали увеличения площади и количества бактериоидов, площади и количества включений волютина. Площадь и количество ПОМ в этом варианте было минимальным. Показатели роста и нитрогеназная активность растений фасоли сорта Шоколадница увеличивались при обработке ризоторфином. Это происходило на фоне увеличения ЦК – в листьях, стеблях и корнях с клубеньками, АБК – в листьях, стеблях и корнях с клубеньками.

4. Наиболее активно процессы азотфиксации протекали в вариантах с большим количеством бактериоидов, с большим количеством и большей площадью гранул включений волютина. Содержание в клетках включений волютина и ПОМ может служить для некоторых видов ризобий дополнительной характеристикой активности симбиотической системы.

#### Литература

1. Волобуева О.Г. Влияние препарата эпин-экстра на содержание фитогормонов в растениях сои разных сортов и эффективность симбиоза //Агрохимия. – 2015. - № 7. – С.34-41.
2. Колмыкова Т.С., Лукаткин А.С. Эффективность регуляторов роста растений при действии абиотических стрессовых факторов // Агрохимия. – 2012. – № 1. – С. 83-94.
3. Хрипач В.А., Жабинский В.А. Лахвич Ф.А. Перспективы практического применения брассиностероидов – нового класса фитогормонов // Сельскохозяйственная биология. – 1995. – № 1. – С. 3-11.
4. Белопухов С.Л., Фокин Е.Ф. Действие защитных стимулирующих комплексов с эпином на рост и развитие льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) // Изв. ТСХА. – 2004. – Вып. 1. – С. 32-39.
5. Волобуева О.Г., Скоробогатова И.В. Изменение содержания фитогормонов и эффективность симбиоза в растениях фасоли при обработке эпином // Доклады РАСХН. 2010. № 4. – С. 19-22.
6. Скоробогатова И.В., Захарова Е.В., Карсункина Н.П., Курапов П.Б., Соркина Г.Л., Кислин Е.Н. Изменение содержания фитогормонов в проростках ячменя в онтогенезе и при внесении регуляторов, стимулирующих рост // Агрохимия. 1999. № 8. – С. 49-53.
7. Волобуева О.Г., Скоробогатова И.В., Шильникова В.К. Влияние биопрепарата альбит на содержание фитогормонов в растениях фасоли разных сортов и эффективность симбиоза // Известия ТСХА. – 2010. – № 1. – С.105-113.
8. Орлов В.П., Орлова И.Ф., Щербина Е.А. и др. Методика оценки активности симбиотической азотфиксации селекционного материала зернобобовых культур ацетиленовым методом. Орел, 1984.
9. Sabatini D.D., Bensch R., Barmett R.J. Cytochemistry and electron microscopy the preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation //J. Cell. Biol.1963. V. 1. № 1. – P. 16-58.
10. Романов В.И. Азотфиксация и метаболизм фотоассимилятов в клубеньках бобовых растений: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. М.: Ин-т биохимии им. А.Н Баха АН СССР, 1987. – 46 с.

## EFFICIENCY INOCULATE BEAN SEEDS IN THE PROCESSING OF PREPARATION

### APIN-EXTRA

O.G. Volobueva

RUSSIAN STATE AGRARIAN UNIVERSITY -

MOSCOW AGRICULTURAL ACADEMY NAMED AFTER K.A. TIMIRYAZEV

**Abstract:** *In a field experiment with bean plants varieties Heliades and Chocolate was studied the efficiency of the inoculation seeds of these plants in the processing of preparation apin-extra. Shown varietal response of plants to process the drug apin-extra: maximum responsiveness*

regarding characterized by a variety of beans *Heliades*. The tubercle of these plants there was an increase in the content of CK, square and quantity bacteroides, volutin inclusions and reducing the square and the quantity of inclusions poly-beta-oxybutyric acid.

**Keywords:** bean, apin-extra preparation, rysotorfin, phytohormones, inoculation, azotfixation, inclusions of poly-beta-oxybutyric acid and volutin, bacteroides.

УДК 635.658:631.527

## НОВЫЙ СОРТ ЧЕЧЕВИЦЫ ОРЛОВСКАЯ КРАСНОЗЕРНАЯ

**А.М. ЗАДОРИН, В.Н. УВАРОВ, П.В. ЯТЧУК**, кандидаты сельскохозяйственных наук

**А.К. БУЛГАКОВА**, научный сотрудник

ФГБНУ «Всероссийский НИИ зернобобовых и крупяных культур»

E-mail: office@vniizbk.orel.ru

Дано описание нового сорта чечевицы Орловская краснозерная, отличающегося оранжевой окраской семядолей. Новый сорт превосходит стандарт по урожайности, качеству семян, по разваримости и ряду других кулинарно-технологических свойств.

**Ключевые слова:** чечевица, сорт, урожайность, качество семян, кулинарно-технологические свойства.

Во Всероссийском научно-исследовательском институте зернобобовых и крупяных культур выведен сорт чечевицы с оранжевыми семядолями. На потребительском рынке чечевица с оранжевыми семядолями используется в шлифованном виде и позиционируется как «красная чечевица». Данная особенность вновь выведенного сорта и его происхождение послужили основанием для выбора названия – Орловская краснозерная.

В мировой кулинарии чечевица красная широко используется в национальных блюдах: так в Индии ее используют в самых разнообразных пюре, которые называют Дал, в супах – Самбхар. В Турции, например, в списке национальных блюд числится суп-пюре из чечевицы – Мерджимек, в Иране очень популярен плов с чечевицей, изюмом и финиками. В Российской кулинарии предлагается свыше 50 рецептов с красной чечевицей, среди которых: похлебки, супы-пюре, гарниры, котлеты, салаты и др. [1].

Основное преимущество краснозерной чечевицы в кулинарии, это быстрая разваримость. Новый сорт по ряду кулинарно-технологических показателей, в том числе и разваримости превосходит стандарт (табл.1).

Таблица 1

Кулинарно-технологические свойства чечевицы 2012-2014 гг.

Сорт	Вкусовые качества, балл	Разваримость, мин.	Выравненность 1-й фракции, %	Натура семян, г/л
Рауза-ст.	5	75,3	72,2	818
Орловская краснозерная	5	60,3	81,3	838

При наличии семенной кожуры время разваримости сорта Орловская краснозерная составляет 60,3 минут, что на 15 минут менее продолжительно, чем у стандарта Рауза. В обрушенном виде (без семенной кожуры) время варки семян краснозерной чечевицы резко сокращается и составляет 10-15 минут. Вкусовые качества семян сорта Орловская краснозерная отличные. Зерно имеет высокую выравниваемость – 81,3 % и натуру 838 г/л.

Кроме приведенных выше показателей новый сорт отличается высокой продуктивностью и качеством зерна (табл. 2).

Средняя урожайность сорта Орловская краснозерная за годы испытания составила 2,06 т/га, стандарта – 1,65 т/га. Максимальная урожайность составила в 2012 году 2,79 т/га. В 2013 году в Орловской области сложились весьма неблагоприятные для чечевицы погодные условия, в первые 24 дня вегетации не выпало ни одного миллиметра осадков. При этом