

Ержебаева Р.С.,
Дидоренко С.В., Даниярова А.

**Оценка засухоустойчивости
сортов сои по анатомо-
морфологическим
и физиологическим признакам**

Растения сои используют различные механизмы для борьбы с засухой, которые регулируются сочетанием различных факторов. Ответ растения на засуху очень сложен и включает в себя взаимодействие между различными молекулярными, биохимическими и физиологическими процессами. К таким адаптивным приспособлениям относятся высокая водопоглощающая способность корней, разработка более длинного стержневого корня, который помогает достичь нижних слоев грунта, снижение испаряемости от надземных органов при формировании листьев меньшего размера, высокая эффективность транспирации, регулировка частичного закрытия устьиц, наличие опушения, которое защищает лист от перегрева и интенсивной солнечной радиации. С целью оценки и выделения засухоустойчивых образцов сои были изучены сорта, допущенные к использованию в Казахстане и перспективные линии селекции Казахского НИИ земледелия и растениеводства по анатомо-морфологическим и физиологическим признакам. По результатам оценки выделены сорта/линии с высокой опушенностью, большим количеством устьиц – Селекта 302, Букурия, Воеводжанка и сорта с высоким индексом устойчивости к осмотическому стрессу Зен, Терек, Черемош.

Ключевые слова: соя, засухоустойчивость, анатомо-морфологические признаки, физиологические признаки, ксероморфизм.

Erzhebaeva R.S.,
Didorenko S.V., Daniyarova A.K.

**Evaluation to drought-resistant
trait of soybean varieties by
using anatomical, morphological
and physiological characteristics**

Soybean plants use various processes to cope with the drought stress and these processes are regulated by a combination of factors. Plant stability to drought is very complex and involves interaction between various molecular, biochemical and physiological processes. These appliances include highly water absorbing roots, the development of more long taproot, which helps to reach the lower layers of soil, reducing evaporation from the surface organs by formation of smaller leaves, high efficiency of transpiration, adjustable partial closing of the stomata, the presence of hairs that protect from the list overheating and intense solar radiation. Soybean varieties admitted to using in Kazakhstan and advanced breeding lines of the Kazakh Research Institute of Agriculture and crop production were studied by anatomical, morphological and physiological characteristics. These researches help to select and allocate drought-tolerant soybean varieties. The evaluation selected varieties or lines with high downy, a large number of stomata (Selecta 302, Bucuria, Voevodzhanka) and varieties with a high index of resistance to osmotic stress (Zen, Terek, Cheremosh).

Key words: soybean, drought-tolerant, anatomical and morphological characteristics, physiological symptoms, kseromorfizm.

Ержебаева Р.С.,
Дидоренко С.В., Даниярова А.

**Қытай бұршақтың анатомия –
морфологиялық белгілері
бойынша құрғақшылыққа
төзімді сорттарын бағалау**

Қытай бұршақ өсімдігінің құрғақшылықпен күресу үшін әртүрлі факторлардың сәйкестігін бақылау арқылы әртүрлі құрылым қолданылды. Әртүрлі молекулярлы, биологиялық және физиологиялық кезеңнің өзара әсеріне байланысты өсімдіктің құрғақшылыққа төзімділігі өте қиын. Өсімдік жапырағын күюден және күн көзінің әсерінен қорғайтын бейімдеу құралдарына топырақтың төменгі қабатына жететін жоғары ылғалдылықты сіңіруге қабілетті тамыр, ұзын үшкір тамырды қалыптастыру, кіші көлемді жапырақтарды қалыптастыру кезінде жердің үстіңгі бөлігіндегі мүшелерінің ылғалдылықты жоғалтуын төмендету, түтікшелердің бөлшектеп жабылуын бақылау, сонымен қатар түктенуі болуы қажет. Қытай бұршақтың құрғақшылыққа төзімді үлгілерін анықтау мақсатында Қазақстанда қолданыстағы және өсімдіктің анатомия – морфологиялық және физиологиялық белгілері бойынша ҚазҰОШҒЗИ-да селекцияда қолданысқа ие линиялар зерттелді. Зерттеу нәтижесі бойынша жоғары түкті және түтігінің саны бойынша көп сорттар бөлініп алынды, олар – Селекта 302, Букурия, Воеводжанка, және осмотикалық күйзеліске төзімділігі жағынан жоғары көрсеткіш көрсеткен сорттар – Зен, Терек, Черемош.

Түйін сөздер: қытай бұршақ, құрғақшылыққа төзімділік, анатомия – морфологиялық және физиологиялық белгілері, ксероморфизм.

**ОЦЕНКА ЗАСУХОУС-
ТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ
СОИ ПО АНАТОМО-
МОРФОЛОГИЧЕСКИМ
И ФИЗИОЛОГИЧЕС-
КИМ ПРИЗНАКАМ****Введение**

Соя – ведущая в мире масличная культура. Соевые бобы являются богатым источником растительного масла и белкового корма. Помимо источников макроэлементов и минералов, соевые бобы содержат вторичные метаболиты [1], сапонины, фитиновую кислоту, олигосахариды, гойтрогены [2] и фитостеролы [3]. Соя также рассматривается и как перспективная культура для производства биодизельного топлива [4]. Соя – представитель бобовых растений и поэтому обладает способностью фиксации атмосферного азота [5], что способствует внесению минимальных доз азотных удобрений, снижая ее себестоимость в сельском хозяйстве.

Все растения постоянно подвергаются абиотическим и биотическим стрессам, которые влияют на их рост и развитие. В частности, вода по-прежнему остается основным лимитирующим абиотическим фактором, глобально влияющим на урожайность [6]. Примерно 1/3 населения мира живет в регионах нехватки воды, а с повышением концентрации углекислого газа в атмосфере и изменением климата в будущем, засуха может стать более серьезной проблемой. Недостаток влаги снижает урожай сои примерно на 40% [7] и является одной из самых главных угроз для урожаев сои. В зависимости от генотипа, растения сои используют около 450-700 мм воды в период вегетации. Однако, наиболее критическим периодом для водного стресса растений сои является этап цветения и период после цветения, т.е. формирования и налива семян [8]. Растения сои используют различные механизмы для борьбы с засухой, которые регулируются сочетанием различных факторов [9]. Ответ растения на засуху очень сложен и включает в себя взаимодействие между различными молекулярными, биохимическими и физиологическими процессами. Они могут быть классифицированы на три группы: (1) избегание периода засухи; (2) предотвращение излишней потери воды клетками (избежание высыхания); и (3) перенесение высыхания [10]. Избегание периода засухи связано с ускоренным завершением основных фаз развития растений до наступления засухи, т.е. укороченный жизненный цикл. Примером такого способа избегания засухи является

ранний посев сои, например в марте-апреле. При посеве в ранние сроки цветение растений сои наступает в периоде конец апреля – начало мая, а бобы формируются к концу мая, т.е. растения сои завершают свой репродуктивный этап до периода возможной засухи (июль-август). Второй механизм засухоустойчивости (избегание высыхания), включает реакции растения, которые помогают им поддерживать высокий уровень воды в период стресса. К таким адаптивным приспособлениям относятся высокая водопоглощающая способность корней, разработка более длинного стержневого корня, который помогает достичь нижних слоев грунта, снижение испаряемости от надземных органов при формировании листьев меньшего размера, высокая эффективность транспирации, регулировка частичного закрытия устьиц. Наличие опушения, которое защищает лист от перегрева и интенсивной солнечной радиации. Третий механизм засухоустойчивости, позволяет организму растения поддерживать тургор и продолжать обмен веществ даже при низком водопотреблении, например через протоплазматическую толерантность и синтез осмолитов [11].

Необходимым условием эффективной селекции на засухоустойчивость является правильная оценка засухоустойчивости. Прямая оценка засухоустойчивости в поле при всей ее объективности требует многолетних наблюдений. Для ускорения селекционного процесса в последнее время применяют косвенную оценку засухоустойчивости с помощью лабораторных физиологических и анатомо-морфологических методов. Физиологические методы ранней диагностики на семенах и проростках позволяют проводить оценку круглый год и анализировать большое количество селекционного материала [12-14].

Настоящее исследование проведено на сортах, допущенных к использованию в Казахстане и перспективных линиях селекции Казахского НИИ земледелия и растениеводства (КазНИИ-ЗиР) с целью оценки и выделения засухоустойчивых образцов в качестве источников по признаку засухоустойчивости.

Материал и методика исследований

Материалом исследований служили 29 сортов сои (*Glycine max L.*) отечественной и зарубежной селекции, допущенные к использованию в Республике Казахстан и перспективные линии Казахского НИИ земледелия и растениеводства.

Был заложен опыт по выращиванию изучаемых сортов/линий в тепличном комплексе КазНИИ-ЗиР при 16 часовом фотопериоде, освещении 10-15 тыс. люкс, температуре воздуха 26-28° С на двух вариантах – орошение и засуха. Опыт закладывался в трех повторностях. Растения на варианте по засухе были доведены до стадии начала цветения и в дальнейшем выращивались без полива.

Растительные образцы для анатомического исследования были отобраны в период, когда растения находились в генеративном возрастном состоянии R4 (фаза образования бобов). Учитывая сильную фенотипическую вариабельность структуры и функциональной активности листа, для анатомических исследований были выбраны типичные фенотипы из опыта. Все наблюдения выполняли на листьях среднего яруса завершивших рост и дифференцировку. По каждому сорту/линии проанализировано по 5 листьев с разных растений. Были приготовлены анатомические препараты нижнего эпидермиса листа – методом «реплик». При подсчете устьиц и волосков использовали не менее 10-ти полей зрения микроскопа. Опушенность листьев оценивали при увеличении $\times 100$, оценку количества устьичных отверстий на единицу листовой поверхности при увеличении $\times 1000$ на Микроскопе Meiji Techno серии MT4000 (Япония). При изготовлении и описании препаратов использовались общепринятые в анатомии растений методики [15,16].

Создание условий искусственного дефицита влаги проводили с использованием нейтрального осмотика (полиэтиленгликоля 6000) с соответствии с модифицированной методикой Valint с соавт. [13]. Стерилизованные семена помещали на увлажненную дистиллированной водой фильтровальную бумагу и помещали в термостат на 48 ч при 25-27°С. Проросшие семена переносили в чашки Петри, содержащие 15 % – ный раствор ПЭГ 6000 и дистиллированную воду (контроль), и выдерживали 72 ч при 25°С и 12-часовом режиме освещения. Производили измерения длины главного корня. Для каждого сорта/линии эксперимент проводился на 15 %-м растворе ПЭГ 6000 и на дистиллированной воде в трех повторностях. По каждому сорту/линии проанализировано по 40 растений. Индекс устойчивости каждого сорта/линии рассчитывали по формуле: отношение величины параметра при выращивании в 15% -ном ПЭГ к соответствующей величине при выращивании на дистиллированной воде.

Результаты исследований

Опушение листа является общей особенностью ксерофитных растений, а также некоторых сельскохозяйственных культур, в том числе сои. Волоски создают экран, защищающий листья от перегрева. Для оценки присутствия признаков ксероморфизма у сортов сои все образцы были оценены по степени опушенности. Оценка опушенности листьев сортов сои показала, что в поле зрения микроскопа при увеличении 10x10 насчитывается в среднем от 6,7 до 20,9 волосков (рисунок 1). Наибольшее опушение $20,9 \pm 1,2$ штук волосков наблюдается у сорта Селекта 302, селекции ООО Компания «Соевый комплекс»

(РФ). В таблице 1 представлены результаты оценки опушенности листьев сортов сои, допущенных к использованию. По высокой опушенности листьев выделены сорта Селекта 302 (20,9 шт.), Букурия (18,3 шт.), Воеводжанка (17,1 шт.), Мисула (16 шт.).

Наблюдения так же показали, что на нижнем эпидермисе листа были обнаружены простые и головчатые волоски. Простые волоски (рисунок 1), являясь выростами эпидермальных клеток, представляют собой одноклеточные образования, в отличие от них многоклеточные головчатые волоски на двух клеточной ножке имеют 3 – 6 клеточные головки с жидкостным содержимым.

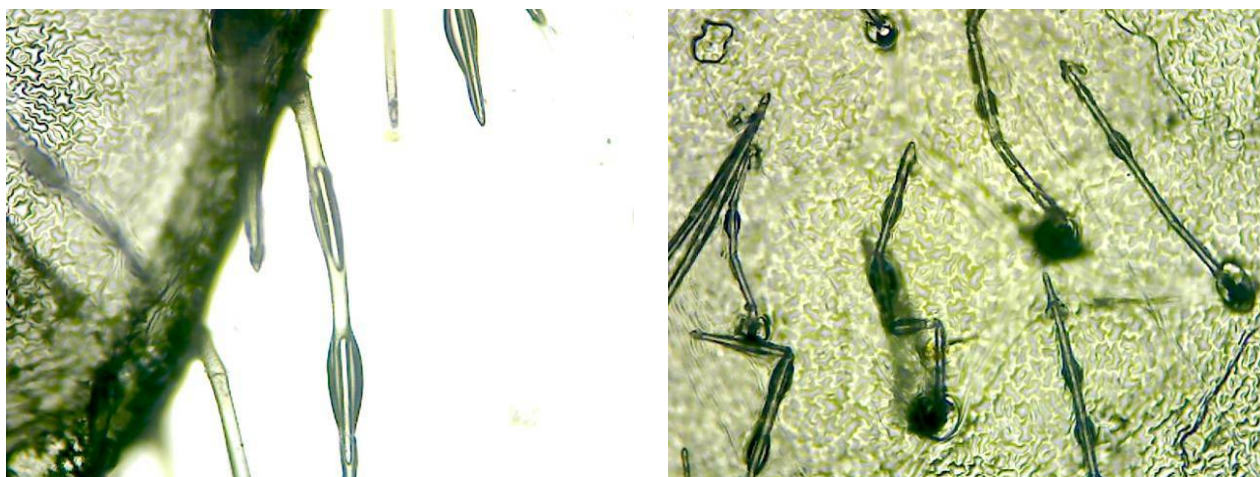


Рисунок 1 – Волоски сорта сои Устя (увеличение x 400 и x200)

Таблица 1 – Результаты оценки засухоустойчивости сои по анатомо-морфологическим признакам

Наименование сорта	Страна происхождения	Среднее количество устьиц, шт	Среднее количество волосков, шт
Гибридная 670	Казахстан	$7,3 \pm 0,6$	$10,4 \pm 0,9$
Ласточка	Казахстан	$7,3 \pm 0,7$	$9,4 \pm 0,8$
Жанся	Казахстан	$8,0 \pm 0,8$	$7,9 \pm 1,1$
Алматы	Казахстан	$8,7 \pm 0,4$	$10,4 \pm 1,0$
Перизат	Казахстан	$8,0 \pm 0,2$	$14,1 \pm 1,2$
Мисула	Казахстан	$11,8 \pm 0,8$	$16,0 \pm 0,9$
Эврика	Казахстан	$11,6 \pm 0,7$	$14,8 \pm 0,8$
Казахстанская 2309	Казахстан	$8,1 \pm 0,9$	$8,8 \pm 0,8$
Жалпаксай	Казахстан	$7,9 \pm 0,5$	$10,0 \pm 0,9$
Вита	Казахстан	$7,9 \pm 0,9$	$11,3 \pm 0,9$

Продолжение таблицы 1

Наименование сорта	Страна происхождения	Среднее количество устьиц, шт	Среднее количество волосков, шт
422	Казахстан	8,1±1,1	11,7±0,6
173	Казахстан	8,8±0,6	12,7±0,5
Танаис	Украина-Канада	8,5±0,7	9,7±0,8
Корсак	Украина-Канада	12,8±0,7	12,5±0,9
Терек	Украина-Канада	8,7±0,8	11,9±0,8
Черемош	Украина-Канада	8,5±0,3	10,3±0,7
Десна	Украина-Канада	6,5±0,7	11,7±0,6
Перемога	Украина	7,2±0,5	6,8±0,9
Аннушка	Украина	9,0±0,8	14,1±0,5
Устя	Украина	8,5±0,6	10,8±0,7
СибНИИК 315	РФ	7,9±0,4	15,1±0,6
Рента	РФ	10,3±0,9	14,5±1,1
Селекта 302	РФ	13,2±0,7	20,9±1,2
Вилана	РФ	15,7±0,4	13,4±0,7
Зен	Швейцария	9,0±0,6	8,3±0,6
Сава	Сербия и Черногория	7,4±0,7	10,3±0,8
Воеводжанка	Сербия и Черногория	12,6±0,7	17,1±1,3
Ана	Сербия и Черногория	11,3±0,4	15,7±1,1
Букурия	Молдова	13,9±0,6	18,3±1,2±1,3

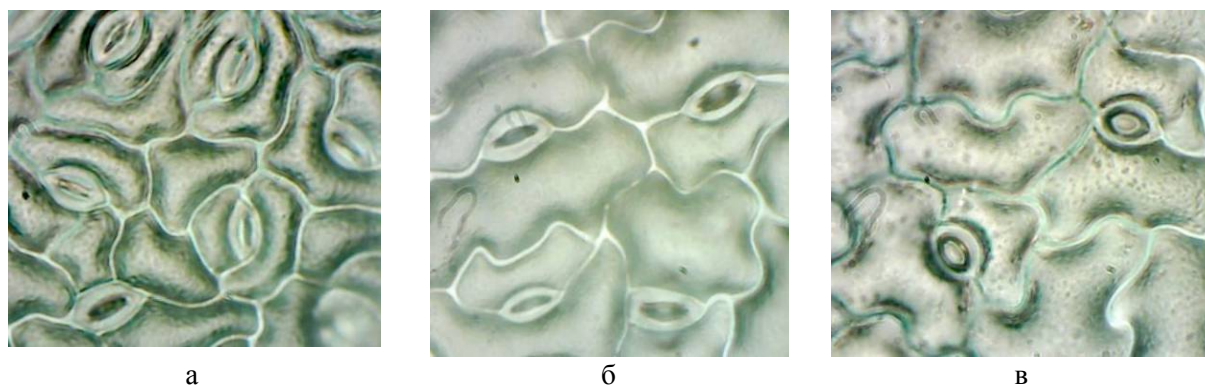


Рисунок 2 – Устьица сортов сои Вилана (а) и Гибридная 670 (б), Пере-мога (в) (увеличение x 1000)

Вторым не менее важным признаком высокотранспирирующих тонколистных ксерофитов является большое количество устьиц и сеть жилок. В связи с этим, была проведена оценка сортов/ линий по количеству устьичных отверстий на единицу листовой поверхности. Результаты

оценки количества устьиц в поле зрения микроскопа при увеличении на x1000 показали, что в среднем они колебалась у разных генотипов сои в пределах 7,2 -15,7 шт (таблица 1). Наиболее высокое количество устьиц зафиксировано у сорта сои Вилана, селекции ВНИИ масличных куль-

тур им. В.С. Пустовойта (рисунок 2). По наличию высокого числа устьиц на единицу площади листовой поверхности выделены сорта: Вилана (15,7 шт.), Букурия (13,9 шт.), Селекта 302 (13,2), Корсак (12,8 шт.), Воеводжанка (12,6 шт.).

Так же наблюдения показали, что по характеру расположения околоустьичных (сопровождающих) клеток на нижней поверхности листа встречаются два типа устьичного аппарата: диацитный (перекрестно-клеточный или кариофиллоидный) – с двумя побочными клетками, расположенными перпендикулярно к устьичной щели, при этом одна из околоустьичных клеток меньше другой (рисунок 2) и аномоцитный тип (беспорядочно-клеточный или ренункуллоидный) – устьица окружены тремя или четырьмя клетками, не отличающимися от других клеток эпидермиса (чаще встречается на верхнем эпидермисе листа).

Проведена оценка на засухоустойчивость 29 сортов и линий сои с помощью лабораторного физиологического метода [13, 14]. Для создания искусственного дефицита влаги использовался нейтральный осмотик – полиэтиленгликоль (ПЭГ 6000). Анализируемые сорта показали различную степень устойчивости к осмотическому стрессу (рисунок 4).

Длина корня сортов Ана, Корсак, Аннушка, линии № 173, была снижена на растворе осмотика 15% ПЭГ по сравнению с контрольным вариантом (средний индекс устойчивости 0,2 – 0,6), что указывает на низкую устойчивость данных сортов к осмотическому стрессу. Наиболее высокую устойчивость из изученных сортов показал сорт Зен, селекции фирмы "Монсанто", Швейцария. Для него индекс устойчивости составил 7 (рисунок 3).

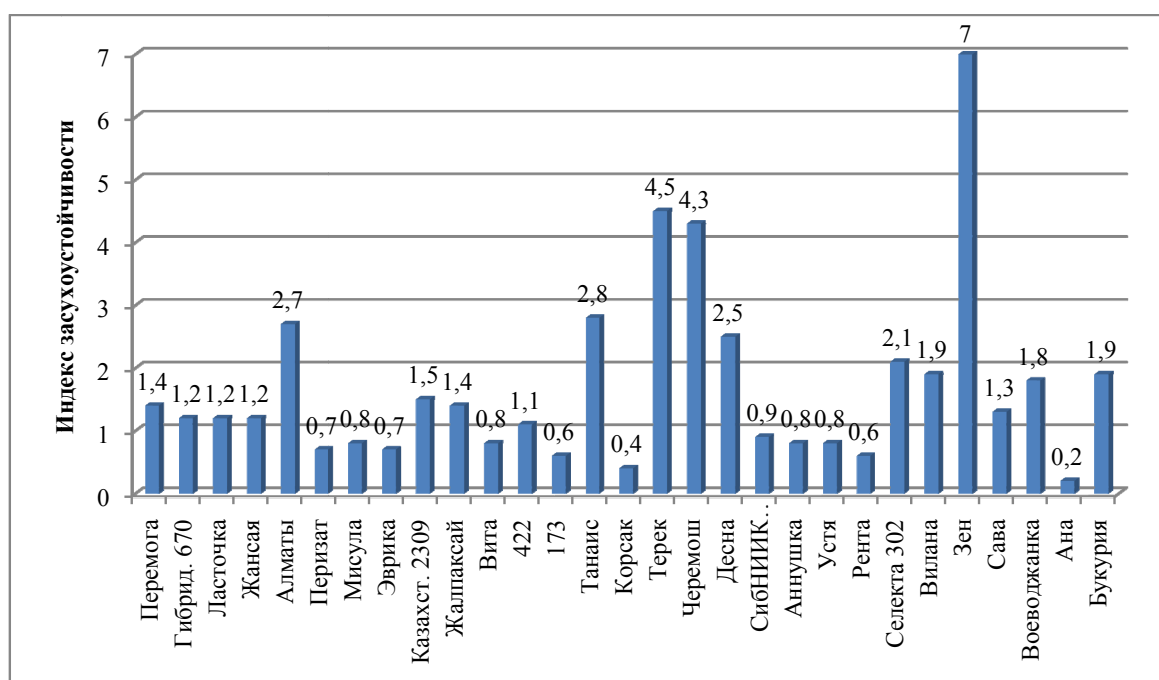


Рисунок 3 – Устойчивость сортов сои на искусственно созданном фоне дефицита влаги

Высокий индекс устойчивости к осмотическому стрессу показали так же сорта Терек (4,5), Черемош 4,3. Сорта Танаис (2,8), Десна (2,5) Алматы (2,65), Селекта 302 (2,1), Букурия (1,9), Вилана (1,9) проявили промежуточную устойчивость к осмотическому стрессу.

При этом необходимо отметить, что растения сои на растворе дистиллированной воды развивали длинный гипокотель 1,2- 2,8 см и более короткий корень 0,4 – 2,3 см. На растворе 15% ПЭГ длина гипокотеля была короче длины корня (рисунок 4).



Рисунок 4 – Оценка засухоустойчивости образцов сои на растворе нейтрального осмотика ПЭГ 6000

Выводы

Изучение сортов/линий сои по анатомо-морфологическим и физиологическим признакам позволили выделить засухоустойчивые образцы с признаками ксероморфизма. По высокой опушенности листьев выделены сорта Селекта 302 (20,9 шт.), Букурия (18,3 шт.), Воеводжанка

(17,1 шт.), Мисула (16 шт.). По наличию высоко-го числа устьиц на единицу площади листовой поверхности выделены сорта: Вилана (15,7 шт.), Букурия (13,9 шт.), Селекта 302 (13,2), Корсак (12,8 шт.), Воеводжанка (12,6 шт.). По высокому индексу устойчивости к осмотическому стрессу выделены сорта Зен (7), Терек (4,5), Черемош 4,3.

Литература

- 1 Sakai T., Kogiso M. Soyisoff avones and immunity// J. Med. Invest. – 2008. – Vol. 55. – P. 167-173.
- 2 Liener I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods// Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 1994. – Vol. 34. – P. 31-67.
- 3 Ososki A.L., Kennelly E.J. Phytoestrogens: a review of the present state of research // Phytother. Res. – 2003. – Vol. – 17. – P. 84-86.
- 4 Pimentel D., Patzek T. Ethanol production using corn, switchgrass and wood; biodiesel production using soybean/ (Eds) Pimentel D. Biofuels, Solar and Wind as Renewable Energy Systems. – 2008. – New York: Springer. – P. 373-394.
- 5 Burrell R.H., Roberts G.P. Biological nitrogen fixation // Annu.Rev. Nutr. – 1993. – Vol.13. – P. 317-335.
- 6 Sharma K.K., Lavanya M. Recent developments in transgenics for abiotic stress in legumes of the semi-arid tropics // JIR-CAS Working Report. – 2002. – P. 61-73.
- 7 Specht J.E., Hume D.J., Kumudini S.V. Soybean yield potential – a genetic and physiological perspective // *Crop Sci.* 1999. – Vol. 39. – P. 1560-1570.
- 8 Meckel L., Egli D.B., Phillips R.E., Radcliffe D., Leggett J.E. Effect of moisture stress on seed growth in soybeans // *Agron. J.* 1984. – Vol. 75. – P. 1027-1031.
- 9 Manavalan L.P., Guttikonda S.K., Tran L.S.P., Nguyen H.T. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean // *Plant and Cell Physiology.* – 2009. – Vol. 50. № 7. – P. 1260-1276.
- 10 Turner N.C., Wright G.C., Siddique K.H.M. Adaptation of grain legumes (pulses) to water limited environments // *Adv. Agron.* – 2001. – Vol. 71. – P. 193-203.
- 11 Nguyen H.T., Babu R.C., Blum A. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations // *Crop Science.* – 1997. – Vol.37. – P. 1426-1434.
- 12 Удовенко Г.В. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям. Методическое руководство. Л.:ВИР, 1988, 226 с.
- 13 Balint A.F., Szira F, Borner A. Galiba G. Segregation – and vances// *Biotechnol. Adv.* – 2010. – Vol.28. P.169-183.
- 14 Baloch M.J., Dunwell J., Khakwani A.A., Denet M., Jatoi W.A., Channa S.A. Assessment of wheat cultivars for drought tolerance via osmotic stress imposed at early seedling growth stages// *J.Agric. Res.* 2012. – Vol.50. – P.299 -310
- 15 Пермяков А. И. Микротехника, М., 1988.- С. 11-18, 28-29.
- 16 Прошина М.Н. Ботаническая микротехника, М., 1960.- 260 с.

References

- 1 Sakai T., Kogiso M. Soyisofl avones and immunity// *J. Med. Invest.* – 2008. – Vol.55. – P. 167-173.
- 2 Liener I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods// *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* -1994. – Vol. 34. – P. 31-67.
- 3 Ososki A.L., Kennelly E.J. Phytoestrogens: a review of the present state of research // *Phytother. Res.* – 2003. – Vol. – 17. – P. 84-86.
- 4 Pimentel D., Patzek T. Ethanol production using corn, switchgrass and wood; biodiesel production using soybean/ (Eds) Pimentel D. *Biofuels, Solar and Wind as Renewable Energy Systems.* – 2008. – New York: Springer. – P. 373-394.
- 5 Burris R.H., Roberts G.P. Biological nitrogen fixation // *Annu.Rev. Nutr.* – 1993. – Vol.13. – P. 317-335.
- 6 Sharma K.K., Lavanya M. Recent developments in transgenics for abiotic stress in legumes of the semi-arid tropics // *JIR-CAS Working Report.* – 2002. – P. 61-73.
- 7 Specht J.E., Hume D.J., Kumudini S.V. Soybean yield potential – a genetic and physiological perspective // *Crop Sci.* 1999. – Vol. 39. – P. 1560-1570.
- 8 Meckel L., Egli D.B., Phillips R.E., Radcliffe D., Leggett J.E. Effect of moisture stress on seed growth in soybeans // *Agron. J.*1984. – Vol. 75. – P. 1027-1031.
- 9 Manavalan L.P., Guttikonda S.K., Tran L.S.P., Nguyen H.T. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean // *Plant and Cell Physiology.* – 2009. – Vol.50. ' 7. – P. 1260-1276.
- 10 Turner N.C., Wright G.C., Siddique K.H.M. Adaptation of grain legumes (pulses) to water limited environments // *Adv. Agron.* – 2001. – Vol. 71. – P. 193-203.
- 11 Nguyen H.T., Babu R.C., Blum A. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations // *Crop Science.* – 1997. – Vol.37. – P. 1426-1434.
- 12 Udovenko G.V. Diagnostika ustoichivosti rastenii k stressovym vozdeistviyam. Metodicheskoe rukovodstvo. L.:VIR, 1988, 226 s.
- 13 Balint A.F., Szira F, Borner A. Galiba G. Segregation □ and vances// *Biotechnol. Adv.* – 2010. – Vol.28. P.169-183.
- 14 Baloch M.J., Dunwell J., Khakwani A.A., Dennet M., Jatoi W.A., Channa S.A. Assessment of wheat cultivars for drought tolerance via osmotic stress imposed at carly seedling growth stages// *J.Agric. Res.* 2012. – Vol.50. – P.299 -310
- 15 Permyakov A. I. Mikrotehnika, M., 1988.- S. 11-18, 28-29.
- 16 Prozina M.N. Botanicheskaya mikrotehnika, M., 1960.- 260 s.