

Влияние норм высева и способа посева на семенную продуктивность многолетних бобовых трав (средние данные за 2007-2009 гг., ц/га)

Способ посева	Норма высева люцерны	Норма высева эспарцета	Люцерна			Эспарцет		
			урожайность	прибавка	%	урожайность	прибавка	%
Рядовой (15 см)	$\frac{4}{8}$	$\frac{4}{80}$	0,83	-	-	10,5	-	-
Рядовой (15 см)	$\frac{2}{4}$	$\frac{2}{40}$	1,12	0,29	34,9	12,3	1,8	17,1
Черезрядный (30 см)	$\frac{2}{4}$	$\frac{2}{40}$	1,40	0,57	68,7	15,1	4,6	43,8
Черезрядный (30 см)	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{20}$	1,72	0,89	107,2	12,4	1,9	18,1
Широко рядный (60 см)	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{20}$	2,14	1,31	157,8	18,2	7,7	73,3
Широко рядный (60 см)	$\frac{0,5}{1}$	$\frac{0,5}{10}$	0,91	0,08	9,6	11,8	1,3	12,4

НСП₀₅ 0,06 0,67

Примечание. В числителе – млн всх. семян/га; в знаменателе – весовая норма высева, кг/га.

Урожайность эспарцета оказалась выше при широко рядном способе посева (60 см) с нормой высева 1 млн всх. семян/га, а также при черезрядном способе посева (30 см) с нормой высева 2 млн всх. семян/га, продуктивность составила, соответственно, 15,1 и 18,2 ц/га. Широко применяемые в производстве рядовые способы посева по люцерне и эспарцету оказались менее продуктивны на 20-35%.

Заключение

Для стабильного производства семян многолетних трав люцерны и эспарцета необходимо посев проводить черезрядным (30 см) и широко рядными способами

(60 см) посева с нормой высева люцерны 1 млн всх. семян/га. Норма высева эспарцета – от 1-2 млн всх. семян/га.

Библиографический список

1. Системы земледелия в Алтайском крае / ВАСХНИЛ. Сибирское отделение АНИИЗиС. – Новосибирск, 1981. – 328 с.
2. Справочник агронома Сибири / под ред. И.И. Синягина, А.И. Плотникова. – М.: Колос, 1978. – 527 с.
3. Яшутин Н.В. Технология энергоресурсосбережения в земледелии Западной Сибири / Н.В. Яшутин, А.И. Хоменко. – Барнаул, 1999. – 127 с.



УДК 633.11:632.3

Э.М. Шарапов,
В.А. Козлов,
Н.Н. Апаева,
А.К. Свечников

АКТИВНОСТЬ АЛЬФА-АМИЛАЗЫ ЗЕРНА И ЗАВИСИМОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЯ ЧИСЛА ПАДЕНИЯ ОТ ВЫСОТЫ РАСТЕНИЯ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ

Ключевые слова: показатель числа падения, α-амилаза, экстракт пшеничных отрубей, газовая хроматография, прибор ПЧП-3, корреляционные отношения,

показатель числа падения, высота стеблестоя яровой пшеницы, оптическая плотность раствора.

Введение

Показатель числа падения (ПЧП) является одним из главных показателей качества ржаного зерна и ржаной муки, косвенно характеризующим активность α -амилазы, определяемой по вязкости клейстеризованной крахмальной суспензии. ПЧП находится в обратной пропорциональной зависимости с активностью ферментов, расщепляющих крахмал. При одинаковом ПЧП двух партий пшеничной муки температурные максимумы пиковых значений активности α -амилазы могут быть разные, поэтому существует мнение, ставящее под сомнение значение ПЧП как маркера активности α -амилазы пшеничной муки.

Целью данного исследования являлось установление взаимосвязи высоты стебля яровой пшеницы и ПЧП с потерями урожая зерна от энзимомикозного истощения, а также сопоставление измерения активности α -амилазы зерна по ПЧП с прямым исследованием ферментативной активности в условиях блокады α -амилазы с помощью ингибитора из экстракта пшеничных отрубей, обнаруженного нами ранее [1-3].

Объекты и методы

Методика получения экстракта из пшеничных отрубей. Килограмм пшеничных отрубей (сход через капроновое сито размером 0,5 мм) помещали в марлевый мешок, который опускали в емкость с дистиллированной водой объемом 5 л. Экстрагировали в течение 36 ч при температуре 20°C. Полученный экстракт центрифугировали при 3 тыс. оборотах в течение 10 мин. Полученную надосадочную жидкость использовали для выделения ингибитора. Поскольку экстракты их разных партий отрубей пшеницы различаются по своей ингибирующей активности, то нами было принято, что 25 мл экстракта при внесении в опару шрота зерна озимой ржи весом 7 г с известным ЧП должны увеличивать этот показатель на 40 единиц. Однородности свойств экстракта при меньших значениях коррекции добивались путем высушивания экстракта в вакуумной сушилке. При более высоких значениях коррекции в экстракт добавляли дистиллированную воду. Достоверность отсутствия водорастворимых белковых ингибиторов проверяли измерением ЧП экстракта и вновь растворенного сухого вещества, очищенного от коагулянтов путем центрифугирования части экстракта, высу-

шенного в условиях вентиляции воздуха температурой не более 40°C. Разница значения ЧП в серии таких измерений не превышала значение ошибки прибора. Все опыты по биотестам проводили экстрактом, содержащим 120 мкг действующего вещества в 1 мл экстракта.

α -амилазу из зерна пшеницы получали согласно методике биохимического исследования растений [4].

Методика изучения воздействия α -амилазы на крахмал муки в присутствии возрастающего количества ингибитора на приборе ПЧП-3. Реакцию воздействия α -амилазы на крахмал муки в присутствии возрастающего количества ингибитора исследовали на приборе ПЧП-3 по ГОСТ 27 676-88, согласно которому активность α -амилазы определяется как показатель числа падения муки. Прибор одновременно определяет показания в двух параллельных пробирках. ЧП одного образца является средним значением ЧП каждой пробирки. В обе пробирки вносятся примерно 7 г муки и 25 мл воды. Определяя активность α -амилазы в присутствии ингибитора, вносимого в нарастающих концентрациях, можно построить кинетическую кривую ингибирования α -амилазы. При этом в одной пробирке определяется показание контрольного варианта, в другой – показание опытного варианта. Один цикл измерений повторяли трехкратно. В случае, если в двух различных измерениях ПЧП контрольного варианта замер превышал порог ошибки прибора, то опыт повторяли.

Для проведения опытов воду и препарат, содержащий раствор ингибитора, смешивали в соотношениях, представленных в таблице 1.

Изучение влияния ингибирующего комплекса на активность α -амилазы ферментативным методом. Сущность ферментативного метода регистрации кинетики ингибирования заключается в измерении оптической плотности раствора крахмала, подкрашенного йодом. Интенсивность окраски, а следовательно и оптическая плотность раствора, обратно пропорциональна активности α -амилазы. Как и в предыдущем опыте в реакционную среду, содержащую α -амилазу, в возрастающей концентрации вносили ингибитор. Измерение оптической плотности производили на фотометре СФ-103 в следующей последовательности:

1) в пробирки вносили 3 мл ацетатного буфера (рН 5,5) и 3 мл заранее приготовленного растворимого 2%-ного крахмала;

2) затем пробирки термостатировали до достижения температуры раствора +40°C;

3) после этого в пробирки вносили раствор α -амилазы по 0,3 мл;

4) ингибитор α -амилазы в пробирки вносили согласно данным таблицы 2.

6) помещали пробирки в термостат на 30 мин. при температуре 40°C;

7) в колбы объемом 50 мл предварительно вносили 30 мл дистиллированной воды, 1 мл 0,1 н раствора соляной кислоты и 5 капель раствора йода;

8) для приготовления раствора йода 3 г йодистого калия растворяли в 25 мл воды, после этого в раствор добавляли 0,3 г йода, объем доводили до 250 мл и использовали для дальнейшего анализа;

9) по истечении 30 мин. пробирки вынимали из термостата и для прекращения ферментативной реакции в каждую пробирку добавляли по 2 мл 1 н раствора соляной кислоты;

10) 0,5 мл раствора из каждой пробирки помещали в колбу с предварительно налитыми реактивами, тщательно перемешивали и доводили дистиллированной водой до метки 50 мл, полученный раствор использовали для определения оптической плотности на фотометре СФ-103 при рабочей длине волны 595 нм;

12) полученные показатели оптической плотности являются мерой активности фермента при различной концентрации ингибирующего комплекса. Эти данные

были исследованы как статистические величины с расчетом средней, ошибки средней и были использованы для построения графиков кинетики ингибирования.

Определение высоты стеблестоя и потери урожая от ЭМИС проводили во время анализа снопов на полевым опыте на фоне навоза (20 т/га) и соломы (3 т/га). Варианты: 1) контроль (без опрыскивания); 2) ТУР (4 кг/га); 3) пестициды (в фазе кущения осуществляли опрыскивание посевов гербицидом Гренч – 10 г/га, инсектицидом Кинмикс – 0,2 л/га, фунгицидом Альто – 0,5 л/га). Общая площадь делянки – 154 м², учетная площадь – 66 м², повторность – 3-кратная, размещение делянок – рендомизированное. Агротехника возделывания яровой пшеницы была общепринятой для данной зоны. Предшественник яровой пшеницы – озимая рожь. Сорт яровой пшеницы Лада. Почва дерново-подзолистая среднесуглинистая. Агрохимические показатели почвы следующие: рН_{сол} – 6,0%; N (общий) – 2,5 мг/100 г почвы; P₂O₅ – 20 мг/100 г почвы; K₂O – 15 мг/100 г почвы.

Высоту растений измеряли методом апробационных снопов. Полученные данные высоты стеблестоя исследовали как статистические величины с расчетом средней, ошибки средней. Уровень различий по высоте стеблестоя контрольной и экспериментальных делянок оценивали с помощью t-теста Стьюдента в среде табличного процессора Excell из пакета прикладных программ MsOffice 2003.

Таблица 1

Приготовление рабочего раствора

№ опыта	Препарат, мл	Вода, мл	Содержание д.в. в 1 мл раствора, мг
1	25	0	3,00
2	21	4	2,52
3	17	8	2,04
4	13	12	1,56
5	10	15	1,20
6	9	16	1,08
7	5	20	0,60

Таблица 2

Количество ингибитора для проведения опыта

№ измерения	1	2	3	4	5	6	7
Количество ингибитора, мл	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0

Результаты исследований и обсуждение

Состав экстракта из пшеничных отрубей. В результате проведенного исследования состава фракций полученного экстракта с помощью газовой хроматографии установлено, что экстракт содержит три вида идентифицированных карбоновых кислот: салициловую (26,34%), кумаровую (0,46%) и мевалоновую кислоты (0,36%), а также различные изомеры карбоновых кислот (16,1%). Кроме того, экстракт содержит фитогормон – абсцизовую кислоту (АБК 22,3%). Идентификацию АБК дополнительно проводили методом ТКХ на пластинке Sorbfil, используя в качестве метчика АБК фирмы Acros. Также обнаружены три вида остатков гексоз, различающихся количеством гидроксогрупп в цикле (3,33; 1,7 и 0,66%), 5-(гидроксиметил) фуран-2-карбоновая кислота (4,9%), феноловой эфир карбаминовой кислоты (6,6%), 6-метоксиперидин-2-он (1,13%) и различные смолы (16,1%).

Сравнение исследования активности α -амилазы с использованием прибора

ПЧП-3 и прямого ферментативного способа. В сельскохозяйственной литературе встречается мнение, ставящее под сомнение характеристику ПЧП как показателя активности α -амилазы пшеничной муки. Для доказательства предположения, что ПЧП характеризует активность α -амилазы муки, мы провели серию опытов по сравнению кинетики ингибирования этого фермента в зависимости от нарастания концентрации ингибитора α -амилазы из отрубей пшеницы с использованием прибора ПЧП-3, с кинетикой ингибирования, полученной в результате использования прямого ферментативного метода также в присутствии нарастающей концентрации ингибитора. В зависимости от концентрации рабочего раствора ингибитора ПЧП увеличивается тем больше, чем выше концентрация ингибитора (рис. 1).

При исследовании активности α -амилазы муки в присутствии ингибитора ферментативным методом наблюдалось зависимое от дозы ингибитора нарастание оптической плотности раствора (рис. 2).

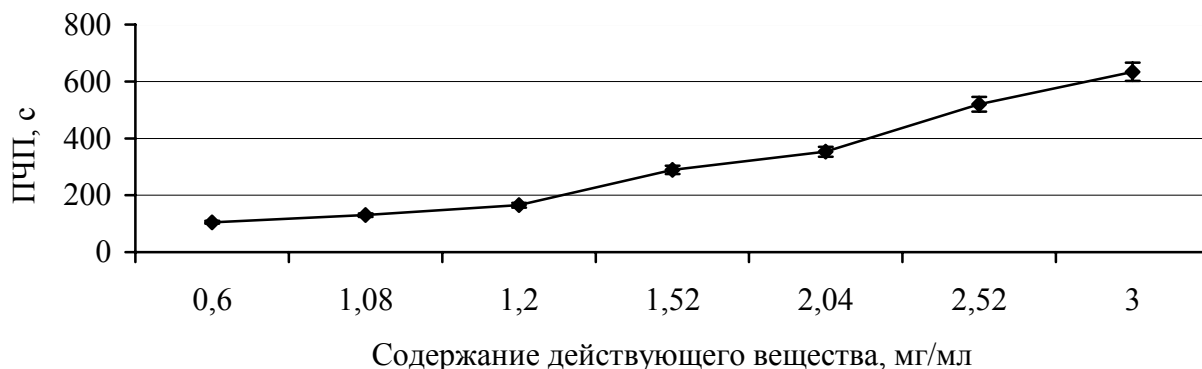


Рис. 1. Зависимость ингибирования α -амилазы муки от концентрации ингибитора

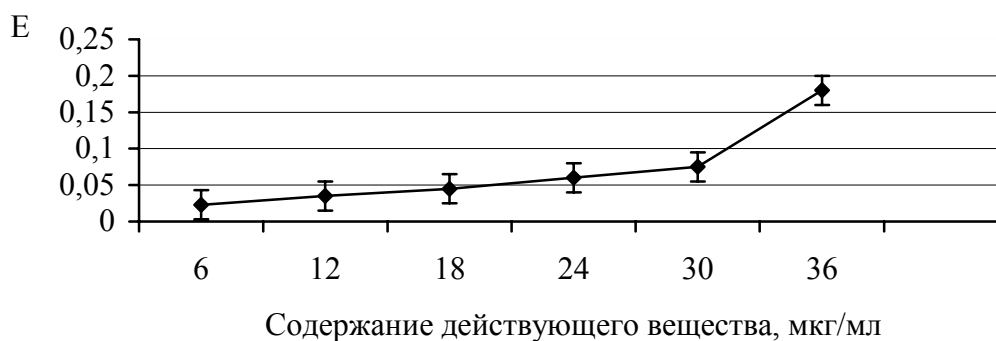


Рис. 2. Зависимость активности α -амилазы муки, выраженная в единицах оптической плотности (Е), от содержания ингибирующего комплекса

Сравнивая характер кривых ингибирования α -амилазы, полученных двумя различными методами, можно отметить, что в обоих экспериментах наблюдается однотипная кривая ингибирования. На основе однотипности кривых ингибирования можно утверждать, что ПЧП достаточно объективно характеризует активность этого фермента. Однако на ингибирование α -амилазы муки (рис. 1) ингибитора расходуется больше, чем на ингибирование α -амилазы прорастающего зерна (рис. 2). Обнаруженное дозовое различие удовлетворительно объясняется наличием разных изоформ α -амилазы. Признано, что этот фермент в зерне присутствует в двух модификациях: α -амилаза «созревания» и α -амилаза «прорастания» [5]. Различие результатов по количеству расходования ингибиторов происходит вследствие следующих причин: 1) в двух приведенных опытах определяли активность разных изоформ α -амилазы; 2) в муке α -амилаза «созревания» содержится в значительно большем количестве, чем в проростках зерна; 3) возможно, α -амилаза «созревания» более устойчива к данному ингибитору, чем α -амилаза «прорастания».

Результаты определения активности α -амилазы и высоты растения. Взаимосвязь активности α -амилазы и высоты растения обнаружена ранее при изучении изоэнзимов α -амилазы зерна ржи [6]. Наибольшая активность α -амилазы в одной зоне изоэнзимных компонентов характерна для карликов и короткостебельных сортов. На основе значений активности α -амилазы таких сортов, как Вятка, Вятка-2, Омка, Камалинская-13, Otello, Bjorn (Швеция), Onni-11, Jo-090, Harman

(Финляндия), Petkus (ФРГ), сформирована шкала эталона качества ржи [7]. В этой шкале лучшему сорту Вятка соответствует наибольшая высота растения и, соответственно, наименьшая активность α -амилазы. Однако для других зерновых культур наличие или отсутствие такой связи не установлено. Поэтому в наших полевых опытах внимание было сосредоточено на изменении высоты растения от технологических приемов возделывания. На рисунке 3 показаны результаты измерения высоты стеблестоя в среднем за три года в сопоставлении с активностью α -амилазы, выраженной в ПЧП.

Изменение высоты растения находит отклик в значениях активности фермента, поэтому коэффициент корреляции между ПЧП и высотой стеблестоя равен 0,88 ($p < 0,01$). Между высотой стеблестоя и активностью α -амилазы наблюдается сильная положительная достоверная корреляция.

Потери урожая от ЭМИС в зависимости от изучаемых параметров опытов представлены в таблице 3.

Во все годы технология возделывания влияет на потери урожая от ЭМИС. Разница потерь урожая (в %) между контрольным вариантом и вариантами опыта существенна ($HCP_{05} 1,392\%$). Нами установлено, что чем меньше активность фермента α -амилазы в зерне яровой пшеницы, тем меньше потери урожая от ЭМИС. Необходимо отметить, что потери, связанные с болезнью ЭМИС, которые наблюдались в опыте в течение 3 лет, на фоне навоза ниже, чем на фоне соломы.

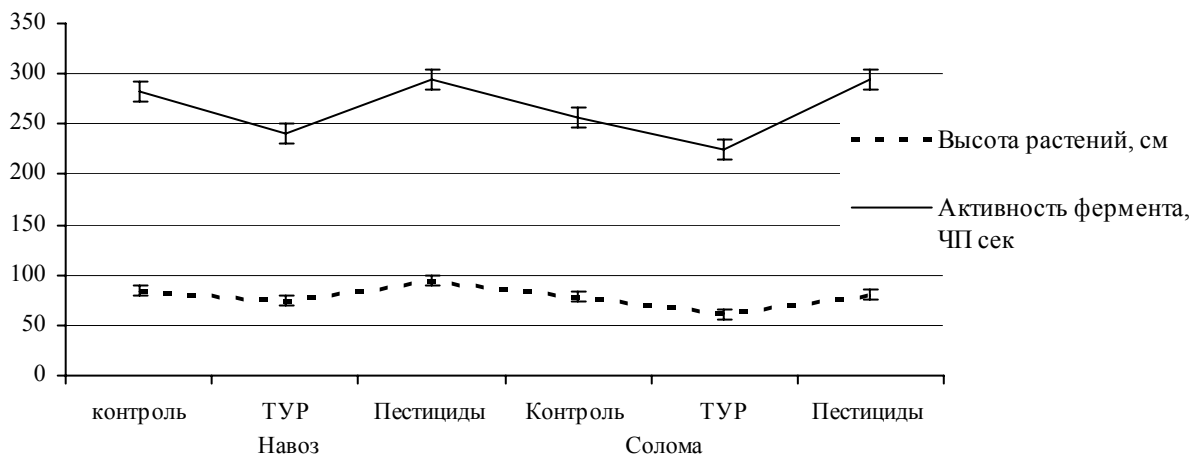


Рис. 3. Активность α -амилазы муки и высота растения яровой пшеницы сорта Лада, 2004-2006 гг.

Общие потери урожая от различных заболеваний и доля потерь урожая от ЭМИС, %

Варианты опыта		Потери от ЭМИС		Общие потери
		от урожая	от общих потерь	
Навоз	контроль	7,5	52	14,5
	тур	4,5	39	11,5
	пестициды	3,8	36	10,7
Солома	контроль	9,3	66	15,0
	тур	6,1	41	14,4
	пестициды	5,1	42	12,1

Выводы

1. Экстракт из пшеничных отрубей подавляет активность α -амилазы ржаной и пшеничной муки.

2. Кинетика ингибирования α -амилазы пшеничной муки, полученная с использованием прибора ПЧП-3 и ферментативного способа, имеет схожий характер.

3. Показатель числа падения характеризует активность α -амилазы муки.

4. Обнаружена сильная достоверная положительная корреляция между активностью α -амилазы зерна яровой пшеницы и длиной растения.

5. Снижение активности α -амилазы в зерне яровой пшеницы способствует уменьшению потерь урожая от ЭМИС.

Библиографический список

1. Влияние ЭМИС на массу и числа зерен в колосе яровой пшеницы сорта Лада / Э. М. Шарапов и др. // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства: матер. регион. науч.-практ. конф. – Йошкар-Ола, 2005. – Вып. VII. – С. 106-108.

2. Шарапов Э.М. Возможные пути решения проблемы энзимо-микозного ис-

тощения зерновых / Э.М. Шарапов и др. // Материалы II Международной научн. шк. «Наука и инновации-2007. ISS, SI-2007» (5-11 июля, 2007, г. Йошкар-Ола). – Йошкар-Ола, 2007. – С. 134-138.

3. Патент 2336701 Российская Федерация, МПК⁵¹ A21D 2/36. Способ увеличения показателя число падения муки и зерна / Э.М. Шарапов и др.; заявитель и патентообладатель Э.М. Шарапов, И.И. Попов, ООО «Орол». – № 2007103374/13(003636); заявл. 30.01.2007; опубл. 27.10.2008, Бюл. № 30. 3 с.

4. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. – М.: Сельхозгиз, 1952. – 520 с.

5. Пищевая химия / С.Е. Траубенберг и др.; под ред. А.П. Нечаева. – СПб.: Глорд, 2007. – 635 с.

6. Кобылянский В.Д. Рожь / В.Д. Кобылянский. – М.; Колос, 1982. – 240 с.

7. Ракитина А.Н. Исходный материал для селекции ржи на качество в условиях Нечерноземья / А.Н. Ракитина, В.И. Комаров // Селекция, семеноводство, сортовая агротехника озимой ржи и яровых культур. – Киров, 1978.

