

КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ РЕСУРСНЫХ ВИДОВ

КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ СЕМЯН *GLYCINE SOJA* (FABACEAE) НА ТЕРРИТОРИИ АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2023 г. С. И. Лаврентьева^{1, 2, *}, Л. Е. Иваченко^{1, 2}, А. А. Блинова¹,
О. Н. Бондаренко¹, В. А. Кузнецова³

¹ФГБНУ ФНЦ “Всероссийский научно-исследовательский институт сои”, г. Благовещенск, Россия

²ФГБОУ ВО “Благовещенский государственный педагогический университет”, г. Благовещенск, Россия

³ФГБНУ ФИЦ “Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова”,
г. Владивосток, Россия

*e-mail: lana.lavrenteva.1984@mail.ru

Поступила в редакцию 17.08.2022 г.

После доработки 30.11.2022 г.

Принята к публикации 20.02.2023 г.

Культурный вид *Glycine max* (L.) Мегг. происходит от дикой сои *Glycine soja* Sieb. et Zucc., которая является источником многих ценных генов, отсутствующих в генотипе культурной сои, включая стрессоустойчивость к неблагоприятным факторам среды. Изучены компонентный состав семян (содержание белка, масла, аскорбиновой кислоты, каротина, высших жирных кислот), удельная активность и множественные формы ферментов класса оксидоредуктаз и гидролаз у 5-ти образцов *Glycine soja* коллекции ФГБНУ ФНЦ Всероссийского научно-исследовательского института сои (КА-1413, КА-342, КБл-29, КБл-24 и КБел-72), которые являются уникальными природными банками генов. Семена были собраны в 3 районах Амурской обл. (Архаринском, Благовещенском и Белогорском). Полученные результаты энзиматической активности супероксиддисмутаза, каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы, рибонуклеазы, кислой фосфатазы, эстеразы, амилазы и компонентный состав семян исследуемых образцов, позволили выявить образец дикой сои КА-1413 с высокими биохимическими показателями (содержания белка, олеиновой и линоленовой кислот), низким значением удельной активности полифенолоксидазы и повышенной активностью супероксиддисмутаза, эстеразы и рибонуклеазы. Образец КА-1413 можно рекомендовать для введения в селекцию в качестве источника устойчивых генов, что будет способствовать повышению адаптивного потенциала новых сортов сои. Повышенной гетерогенностью множественных форм в семенах дикой сои обладают супероксиддисмутаза, пероксидаза, РНКазы и эстераза, которые можно использовать как маркеры процесса адаптации к условиям среды.

Ключевые слова: *Glycine soja*, аскорбиновая кислота, каротин, высшие жирные кислоты, оксидоредуктазы, гидролазы, удельная активность, множественные формы ферментов

DOI: 10.31857/S0033994623010065, **EDN:** YANVXH

Glycine max (L.) Мегг. (соя) — одна из важнейших сельскохозяйственных культур, обеспечивающих продовольственную безопасность человечества [1, 2]. *Glycine max* произошла от дикого предка *Glycine soja* Siebold et Zucc. — однолетнего травянистого, самоопыляющегося растения, имеющего выходящий стебель (рис. 1). Все растение *G. soja* покрыто бурими волосками, направленными вниз, листья сложные, тройчатые [3]. Хорошо изучены морфологические признаки *G. soja*. А.Я. Ала выявил вариабельность формы и размеров листовых пластинок, цвета семян и других характеристик образцов *G. soja* [4]. В природе *G. soja* произрастает на солнечных склонах, вдоль обочин дорог, на берегах водоемов, в редколесьях, а также в местообитаниях с высоким уровнем антропогенного

воздействия (на заброшенных полях, сельскохозяйственных угодьях, вокруг деревень). Разрушение естественных местообитаний сои из-за расчистки земель для сельскохозяйственных или промышленных целей привело к сокращению ресурсов дикой гермоплазмы [5].

Первичным генетическим центром происхождения *G. soja* являются Северо-Восточный Китай, Тайвань, Япония, Корея и Дальний Восток России (северная граница ареала в Амурской обл.). Одной из причин высокого генетического разнообразия дальневосточных образцов дикой сои является контрастность климатических условий, что позволяет использовать *G. soja* в селекционных программах для повышения адаптивного потенциала новых сортов [6]. Изучение естествен-



Рис. 1. *Glycine soja* Siebold & Zucc: *a* — растения дикой сои на опытном участке ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои (с. Садовое Тамбовского района Амурской области); *b* — форма дикой сои КА-1413; *c* — цветок дикой сои.

Fig. 1. *Glycine soja* Siebold & Zucc: *a* — wild soybean plants on the crop rotation field of the All-Russian Research Institute of Soybean (Sadovoe village, Tambov District, Amur Region); *b* — wild soybean form KA-1413; *c* — wild soybean flower.

ных и антропогенных популяций дикой сои, содержащих уникальные и полезные гены, которые были потеряны при одомашнивании, позволяет создавать уникальные природные банки генов дикой сои как ближайшего родственника культурной сои [2, 7–9].

Главной задачей селекционеров является создание сортов сои с повышенной урожайностью и высокой приспособленностью к неблагоприятным условиям окружающей среды [10]. Генетическое разнообразие зернобобовых сократилось из-за селекционной деятельности, направленной на искусственный отбор хозяйственно ценных признаков. Поэтому новые сорта сои, полученные в основном методом гибридизации, обладают характеристиками, генетически отличными от их диких предков [11]. По сравнению с *G. soja*, культурная соя потеряла около 50% генетического разнообразия [12]. Одна из основных причин истощения резервов генофонда для селекции хозяйственно-ценных признаков, узкая норма реакции современных сортов сои [7].

Ряд авторов, в том числе Ала А.Я., Калицкая Н.Г., Синеговская В.Т., считают, что для повышения адаптации новых сортов сои в селекционный процесс важно вовлекать дикие формы сои в качестве доноров скороспелости, многосемянности, высокобелковости и устойчивости к ряду болезней [13–17], что позволяет полнее использовать потенциальные возможности этой культуры [2, 18, 19]. Дикая соя является высокобелковой масличной культурой. Содержание белка в семенах дикой сои варьирует от 47.9 до 52.3%, масла —

от 9.3 до 12.0% [20, 21]. Между содержанием белка и масла в семенах сои существует обратная корреляция [22]. Для *G. soja* характерно повышенное содержание α -линоленовой кислоты в масле семян [23].

Литературный анализ показал, что *G. soja* филогенетически диверсифицирована и адаптирована к различным средам обитания, обладает устойчивостью к различным абиотическим и биотическим стрессам [21, 24–26]. Гибридизация *G. max* и *G. soja* способствует созданию новых культурных сортов с повышенной стрессоустойчивостью [27].

Устойчивость растений к условиям среды является важной составляющей адаптивного потенциала сортов зернобобовых и масличных культур, которая в основном определяется антиоксидантной системой (АОС). Среди низкомолекулярных метаболитов АОС, наибольший интерес вызывают аскорбиновая кислота и каротиноиды. Аскорбиновая кислота (АК), которая синтезируется в цитозоле, принимает участие в детоксикации пероксида водорода и ингибировании перекисного окисления липидов (ПОЛ) [28, 29]. В составе антенных комплексов реакционных центров хлоропластов функционируют каротиноиды, которые постоянно снижают содержание синглетного кислорода [30]. Хайрулина Т.П. и Семенова Е.А. установили, что в условиях водного стресса семена дикой сои больше накапливают аскорбиновой кислоты и токоферола, чем семена культурной сои [31].

Адаптация сои к условиям произрастания определяется на биохимическом уровне. Известно, что с

условиями выращивания сои связано изменение активности ферментов [24]. Оксидоредуктазы являются универсальными индикаторами состояния растения [32]. В группу оксидоредуктаз включают супероксиддисмутазу (СОД), каталазу (КАТ), пероксидазу (ПОД), полифенолоксидазу (ПФО) [33, 34], которые являются антиоксидантами и участвуют в детоксикации активных форм кислорода [35]. СОД катализирует реакцию восстановления супероксидрадикала до пероксида водорода. Высокий уровень ее активности коррелирует с устойчивостью растений к засухе, патогенным воздействиям, другим биотическим и абиотическим факторам [26]. КАТ устраняет избыточное количество пероксида водорода, однако вследствие низкого сродства к субстрату она эффективна только при высоких концентрациях H_2O_2 [36]. Активность ПОД меняется в зависимости от состава почв, температурного режима, влияния вирусных и бактериальных патогенов, ее активность повышается при усилении метаболизма — во время весеннего активного роста и в период цветения [37]. ПФО — защитный фермент, который играет важную роль в деградации фенолов и флавоноидов растений. Показано, что в стрессовых условиях ее активность в клетке возрастает, что препятствует распространению АФК [32].

Интерес к ферментам класса гидролаз связан с их участием в инициации и развитии патологического процесса в растительных тканях. Ферменты углеводного обмена участвуют в гидролизе, синтезе и модификации углеводов. Они являются перспективными биомаркерами [38]. Важно заметить, что эстеразы катализируют многочисленные реакции гидролиза сложных эфиров и обладают высокой каталитической активностью [39]. К защитным энзимам, обладающим широкой субстратной специфичностью и способным нейтрализовать действие большого спектра вирусных, бактериальных и других инфекций, относится рибонуклеаза (РНКаза). У большинства вирусов растений генетический материал представлен РНК, поэтому можно предположить, что экстраклеточные РНКазы, индуцируемые повреждением, являются одним из компонентов противовирусной защиты на начальных этапах инфекции.

Для решения самых разных проблем в биологии, в частности популяционного генетического разнообразия дикой сои, широко используются изоферментные системы, в том числе их множественные формы [40–44]. Белковые маркеры позволяют анализировать изменчивость отдельных локусов у разных генотипов, не прибегая к скрещиваниям, так как, например, электрофоретически выявляемые изоферменты можно рассматривать как маркеры соответствующих генов [43, 45]. Изменения абиотических и биотических факторов среды приводят к появлению новых множественных форм ферментов, что является

свидетельством адаптивной реакции растений. [46, 47]. Учитывая вышесказанное, для исследований дикой сои выбраны ферменты: супероксиддисмутаз (СОД, К.Ф. 1.15.1.1), каталаза (КАТ, К.Ф. 1.11.1.6), пероксидаза (ПОД, К.Ф. 1.11.1.7), полифенолоксидаза (ПФО, КФ 1.10.3.1), рибонуклеаза (РНКаза, К.Ф. 3.1), кислая фосфатаза (К.Ф. 3.1.3.2), эстераза (К.Ф. 3.1.1.X) и амилаза (К.Ф. 3.2.1.1).

В настоящее время использование биохимических показателей в качестве диагностических критериев устойчивости растений к условиям прирастания является актуальным направлением. Ожидается, что использование дикой сои увеличится в результате постоянного улучшения информации о геноме и генетическом разнообразии вида, а также совершенствования инструментов селекции [48, 49]. Это основано на предположении, что дикие образцы будут легко доступны для исследований и селекции сои, что требует не только характеристики по морфологическим и хозяйственно ценным показателям, но и проведения их биохимического и генетического мониторинга для сохранения в качестве генетического материала в банках генов. Комплексное исследование *G. soja* обогатит генетическую и биохимическую основу ее выращивания, совершит прорыв в селекции, обеспечит устойчивое развитие соевой отрасли и позволит эффективно использовать ее генетические ресурсы [11].

Цель исследования — изучение компонентного состава семян коллекционных образцов *G. soja* ФГБНУ ФНЦ Всероссийского научно-исследовательского института сои (ФНЦ ВНИИ сои) для дальнейшего использования их в селекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были семена 5 образцов *Glycine soja*, отобранные в 3 районах Амурской обл. (рис. 2): КА-1413, КА-342 (Архаринский р-н), КБл-29, КБл-24 (Благовещенский р-н) и КБел-72 (Белогорский р-н), которые являются уникальными природными банками генов. Семена дикой сои выращены в 2019 г. на участке полевого севооборота ФНЦ ВНИИ сои (с. Садовое, Тамбовского р-на, Амурской обл.).

Полевые опыты закладывали на луговой черноземовидной почве по технологии возделывания сои, разработанной для южной сельскохозяйственной зоны Амурской обл. [50]. Материал отбирали и анализировали в 2020 г. Анализ содержания малонового диальдегида (МДА), каротина, аскорбиновой кислоты и активности ферментов в семенах образцов *G. soja* проводили в лаборатории биотехнологии ФНЦ ВНИИ сои.

Экстракт белков сои получали путем гомогенизации семян (500 мг) в 0.15 М NaCl при 5 °С в

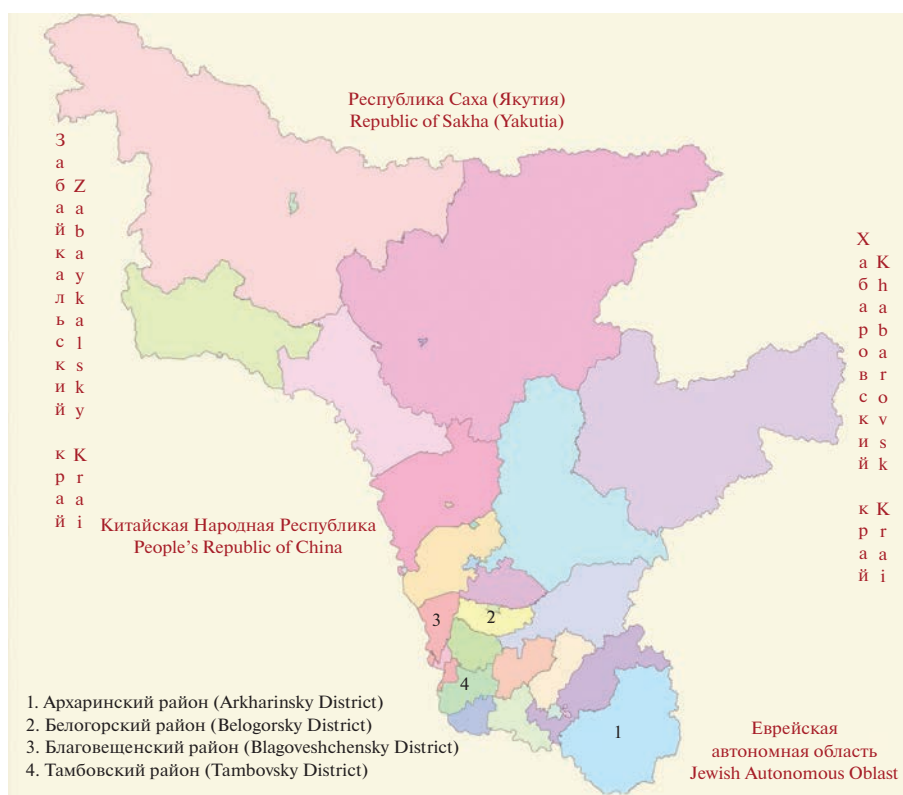


Рис. 2. Районы происхождения исследуемых образцов *Glycine soja* Sieb. et Zucc. 1 – Архаринский р-н (КА-1413, КА-342), 2 – Белогорский р-н (КБел-72), 3 – Благовещенский р-н (КБл-29, КБл-24), 4 – Тамбовский р-н.

Fig. 2. Areas of origin of the studied *Glycine soja* Sieb. et Zucc. forms. 1 – Arkharinsky District (KA-1413, KA-342), 2 – Belogorsky District (KBel-72), 3 – Blagoveshchensk District (KBl-29, KBl-24), 4 – Tambovsky District.

течение 15 мин. Затем экстракт центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об./мин. После центрифугирования осадок отбрасывали, в надосадочной жидкости определяли содержание белка, МДА и удельную активность ферментов [34, 51, 52].

Содержание белка определяли по методу Лоури на спектрофотометре CARY 50, при длине волны 750 нм относительно контроля в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см [53], МДА — по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), которая при высокой температуре (100 °С) в кислой среде (рН 2.5–3.5) протекает с образованием окрашенного триметинового комплекса. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре CARY 50 при длине волны 532 нм относительно контроля, содержащего реакционную смесь и экстракт белка, но без ТБК, в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см [51].

Определение содержания белка, масла и ЖК проводили в лаборатории переработки сельскохозяйственной продукции ФНЦ ВНИИ сои методом спектроскопии в ближней инфракрасной области с использованием анализатора “FOSS NIR Systems 5000”.

Содержание каротина определяли фотоколориметрическим методом по методике Б.П. Плеш-

кова при длине волны 440 нм относительно стандарта — бихромата калия (количество каротина в 1 мл соответствует 0.00416 мг). Содержание витамина рассчитывали в мг/100 г [54]. Аскорбиновую кислоту определяли общепринятым методом биохимического исследования растений по методике А.И. Ермакова, титрованием краской Тильманса. Содержание АК рассчитывали в мг% [55].

Активность СОД измеряли на спектрофотометре CARY 50, метод основан на ингибировании ферментом фотохимического восстановления тетразолиевого нитросинего, при длине волны 560 нм относительно темнового контроля в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см. Активность КАТ определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 240 нм по скорости разложения пероксида водорода с образованием воды и кислорода, относительно контроля в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см [34]. Активность ПОД измеряли колориметрическим методом по А.Н. Бояркину в модификации А.Т. Мокроносова на КФК-2 при длине волны 670 нм в кювете с поглощающим слоем 2 см, по скорости реакции окисления бензидина до образования бензидинового синего в присутствии пероксида водорода. Активность ПФО регистрировали на фотоэлектроколориметре КФК-2 по ме-

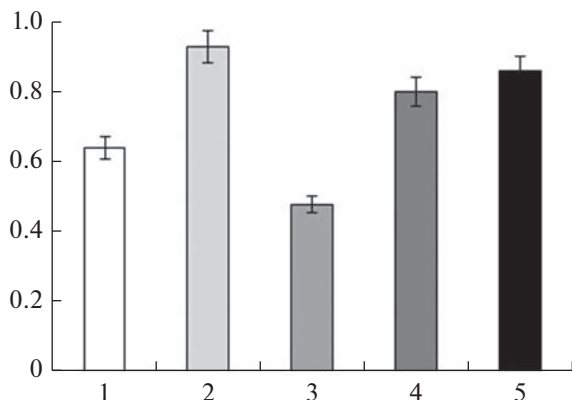


Рис. 3. Содержание МДА в семенах *Glycine soja* Sieb. et Zucc. По горизонтали: 1 – КБл-24, 2 – КБл-29, 3 – КБел-72, 4 – КА-342, 5 – КА-1413; по вертикали: содержание малонового диальдегида, мкмоль/г сырой массы.

Fig. 3. MDA content in wild soybean seeds. X-axis: 1 – KBl-24, 2 – KBl-29, 3 – KBel-72, 4 – KA-342, 5 – KA-1413; y-axis: malondialdehyde content, μmol/g fresh weight.

тоду Ермакова А.И., основанном на измерении оптической плотности продуктов реакции, образовавшихся при окислении пирикатехина за определенный промежуток времени (20 с), при длине волны 590 нм в течение 2 мин в кювете с поглощающим слоем 2 см [52].

Удельную активность РНКазы определяли с высокополимерной РНК из дрожжей в качестве субстрата спектрофотометрическим методом при длине волны 260 нм, относительно контроля, в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см. Удельную активность кислой фосфатазы измеряли на спектрофотометре CARY 50 с *n*-нитрофенилфосфатом (динатриевая соль) в качестве субстрата, при длине волны 415 нм относительно контроля в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см. Удельную активность эстеразного комплекса анализировали по методу Ван Асперна при длине волны 550 нм на спектрофотометре CARY 50 против контроля, с толщиной поглощающего слоя 1 см. Удельную активность амилазного комплекса определяли спектрофотометрическим методом по количеству негидролизованного нерасщепленного амилазы крахмала после обработки 0.3%-м раствором I_2 в 3%-м водном растворе KI. Оптическую плотность измеряли при длине волны 670 нм относительно воды в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см [56].

Электрофоретические спектры исследуемых ферментов выявляли методом электрофореза на пластинках 8 и 10%-ого полиакриламидного геля в камере для вертикального электрофореза Mini-PROTEAN Tetra (Bio-Rad) [57]. Окрашивание на геле форм ферментов проводили соответствующими гистохимическими методами [56, 58–60].

Стандартным критерием для характеристики множественных форм ферментов являлась их относительная электрофоретическая подвижность (R_f). Нумерация форм для ферментов приведена в порядке возрастания от высокоподвижных к низкоподвижным формам. Каждой форме было присвоено свое сокращенное обозначение в соответствии со значениями их R_f [46, 61].

Все биохимические исследования проводили в двух биологических и трех аналитических повторностях [62]. При анализе количественных и качественных признаков использовался метод корреляционного анализа. Полученные экспериментальные данные были обработаны статистически. Результаты выражали как среднее ($n = 6$) $\pm$ стандартное отклонение, различия считались статистически значимыми при $p \leq 0.5$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Малоновый диальдегид. Известно, что содержание МДА может служить показателем активности окислительных процессов и отражать адаптационную способность растений [63]. В результате исследований нами установлена повышенная концентрация МДА в семенах сои, отобранных из Архаринского р-на, КА-342 и КА-1413 (0.8 и 0.86 мкмоль/г сухой массы соответственно), а также КБл-29 (0.93 мкмоль/г сухой массы) (рис. 3). Низкое содержание МДА выявлено у образца КБел-72 (0.50 мкмоль/г сухой массы) из Белогорского р-на.

Биохимические показатели. Известно, что содержание белка у дикой сои отрицательно соотносится с масличностью, что показали и наши исследования [21]. В результате изучения компонентного состава семян различных образцов дикой сои выявили повышенное содержание белка у КА-1413 (47.4%) с одновременным снижением содержания масла (9.6%), что указывало на усиление метаболических процессов (табл. 1). На основании этого предположили, что снижение содержания масла связано с его расходом на синтез АТФ.

Содержание ненасыщенных ВЖК, в частности олеиновой и линоленовой, значительно варьировало. В результате анализа установили повышенное содержание олеиновой кислоты в семенах КА-1413 (30.0%) и минимальное – в семенах КБл-24 (20.2%). Причем в образце КА-1413 отмечено на 2% более высокое содержание линоленовой кислоты относительно других образцов дикой сои, что связано с защитными механизмами, в которых участвует эта кислота [64]. Заметим, что при этом содержание насыщенных карбоновых кислот (стеариновой и пальмитиновой) в семенах образца *G. soja* КА-1413 достаточно низкое (3.51 и 9.10% соответственно), а их максимальное содер-

Таблица 1. Биохимические показатели семян образцов *Glycine soja* Sieb. et Zucc., %
Table 1. Biochemical parameters of *Glycine soja* specimen seeds, %

Показатель Indicator	Образец <i>Glycine soja</i> <i>Glycine soja</i> specimen				
	КБл-24 KBl-24	КБл-29 KBl-29	КБел-72 KBel-72	КА-342	КА-1413
Белок Protein	44.18	44.93	45.29	44.82	47.37
Масло Oil	10.39	9.97	10.08	10.12	9.60
Стеариновая кислота Stearic acid	3.77	3.74	3.67	3.67	3.51
Пальмитиновая кислота Palmitic acid	9.41	9.27	8.97	9.08	9.10
Олеиновая кислота Oleic acid	20.20	23.55	27.41	26.41	30.02
Линолевая кислота Linoleic acid	50.96	50.80	50.75	50.80	51.09
Линоленовая кислота Linolenic acid	11.48	11.93	11.75	11.89	13.74

жение обнаружено в семенах КБл-24 (3.77 и 9.41% соответственно).

Качество соевого масла зависит от содержания высших ненасыщенных карбоновых кислот. Для улучшения качества масла необходимо, чтобы в семенах было больше олеиновой, и меньше линоленовой кислоты [64, 65]. Установлено повышенное содержание линоленовой, олеиновой и линолевой кислот в семенах образца *G. soja* КА-1413, что соотносится с повышением содержания белка, и согласуется с литературными данными [66]. В ходе проведенных исследований выявили, что в семенах образца *G. soja* КА-1413 содержание олеиновой кислоты увеличивалось в большей, а линоленовой — в меньшей степени. Из этого мы предполагаем, что качество масла культурной сои улучшится, если ввести КА-1413 в селекционный процесс.

Витамин С и каротин. Исследуемые низкомолекулярные антиоксиданты ингибируют образование АФК. В результате анализа АК и каротина зафиксировано наиболее высокое содержание каротина в семенах образца *G. soja* КБл-24 (0.18 мг/100г), а АК — в КА-342 (52.92 мг%) (рис. 4), что препятствует повреждающему влиянию активных форм кислорода на семена и способствует их лучшей адаптации к условиям выращивания. Следует отметить повышенное содержание каротина в семенах сои, собранных в Благовещенском и Белогорском р-нах, а аскорбиновой кислоты — на самом юге Амурской обл. (в Архаринском р-не).

Оксидоредуктазная активность. К наиболее информативным показателям внутриклеточного

метаболизма относятся оксидоредуктазы. Удельная активность супероксиддисмутазы (СОД) в семенах всех исследуемых образцов дикой сои была примерно одинаковой и варьировала в пределах 150–180 ед./мг белка. Установлена пониженная активность ПФО (полифенолоксидазы) в семенах всех исследуемых образцов *G. soja* (1.0–2.19 ед./мг белка), особенно — в КА-1413 (0.2 ед./мг белка) (рис. 5а). Это, видимо, связано с незначительными окислительными процессами и высокой активностью других антиоксидантных ферментов. Например, удельная активность ПОД (пероксидазы) в семенах исследуемых образцов дикой сои была очень высокой (361–801 ед./мг белка). Известно, что ПОД и КАТ являются ферментами-антагонистами в семенах и проростках сои [46]. Так, повышение удельной активности ПОД повлекло снижение удельной активности КАТ. Низкая удельная активность КАТ в семенах образцов *G. soja* КА-342 и КА-1413, видимо, компенсировалась повышением количества форм ПОД (до трех форм) (рис. 6).

Анализ схем энзимограмм оксидоредуктаз семян дикой сои позволил выявить 6 форм СОД, 2 формы — КАТ, 3 формы — ПОД и 1 форму — ПФО. Следует отметить, что количество МФ в СОД и ПФО было постоянным в семенах всех исследуемых образцов дикой сои. Количество множественных форм каталазы было стабильно во всех образцах (по 1 форме), но электрофоретическая подвижность (R_f) их отличалась. Изучение множественных форм ПОД позволило выявить три формы в семенах сои КБел-72, КА-342 и КА-1413.

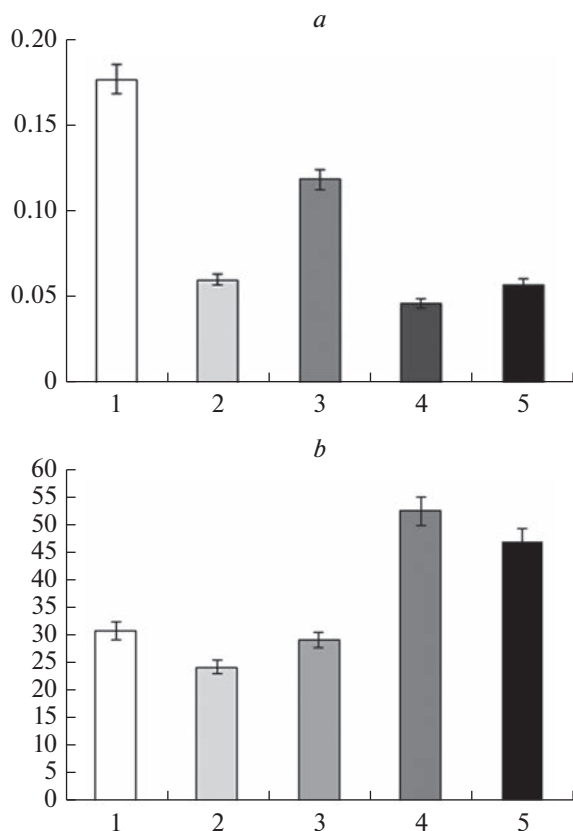


Рис. 4. Содержание каротина (а) и аскорбиновой кислоты (b) в семенах *Glycine soja* Sieb. et Zucc. По горизонтالي: 1 – КБл-24, 2 – КБл-29, 3 – КБел-72, 4 – КА-342, 5 – КА-1413; по вертикали: содержание каротина, мг/100 г (а) и аскорбиновой кислоты, мг% (b).
Fig. 4. Carotene (a) and ascorbic acid (b) content in *Glycine soja* Sieb. et Zucc. seeds. X-axis: 1 – KBl-24, 2 – KBl-29, 3 – KBel-72, 4 – KA-342, 5 – KA-1413; y-axis: carotene content, mg/100 g (a) and ascorbic acid content, mg% (b).

Пониженная активность антиоксидантных ферментов соотносится с повышением содержания в семенах сои каротина и аскорбиновой кислоты.

Гидролитическая активность. Важной составляющей защитного ответа растений на действие патогенов является образование соединений, подавляющих гидролитическую активность микроорганизмов. Принимая во внимание тот факт, что у большинства вирусов растений генетический материал представлен РНК, можно предположить, что экстраклеточные РНКазы, индуцируемые поражением, являются одним из компонентов противовирусной защиты. Это подтверждает гипотезу об участии экстраклеточных РНКаз растений в формировании устойчивости к вирусам [67, 68]. Полученные нами результаты о повышенной удельной активности РНКазы в семенах исследуемых образцов дикой сои, за исключением образца КБл-29, свидетельствуют об их повышенной вирусоустойчивости (рис. 5b). Анализ

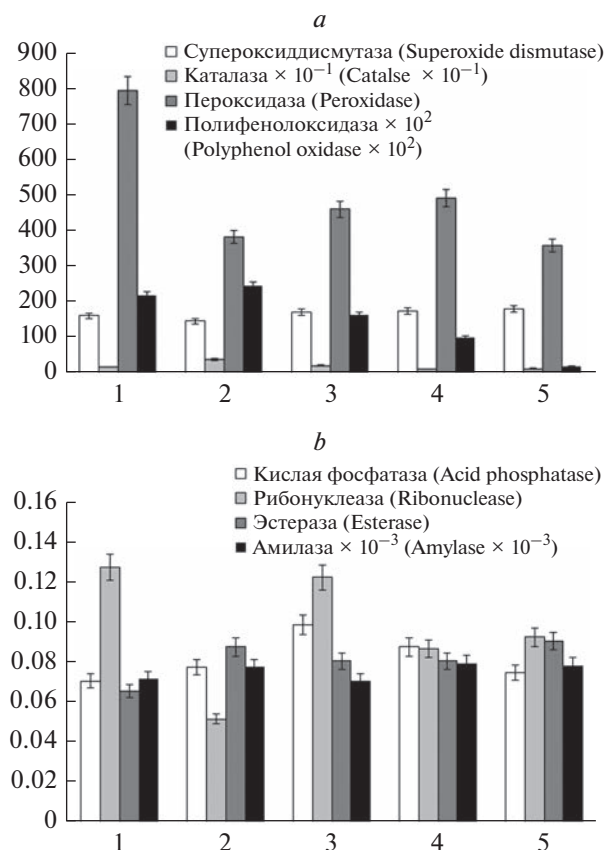


Рис. 5. Удельная активность оксидоредуктаз (а) и гидролаз (b) семян *Glycine soja* Sieb. et Zucc. По горизонтали: 1 – КБл-24, 2 – КБл-29, 3 – КБел-72, 4 – КА-342, 5 – КА-1413; по вертикали: удельная активность оксидоредуктаз (а) и гидролаз (b) (A_{уд} ед./мг белка).

Fig. 5. Specific activity of oxidoreductases (a) and hydrolases (b) of wild soybean seeds. X-axis: 1 – KBl-24, 2 – KBl-29, 3 – KBel-72, 4 – KA-342, 5 – KA-1413; y-axis: specific activity of oxidoreductases (a) and hydrolases (b) (A_{sp} unit/mg of protein).

энзимограмм РНКаз семян дикой сои выявил одинаковые спектры из трех форм во всех исследуемых образцах (рис. 7). Удельная активность кислой фосфатазы семян различных образцов *G. soja* низкая (0.071–0.099 ед./мг белка) (рис. 5b) и соотносится с одной выявленной стабильной формой кислой фосфатазы КФ7 (Rf = 0.35) (рис. 7).

Удельная активность эстеразы в семенах всех исследуемых образцов дикой сои варьировала от 0.066 ед./мг белка у КБл-29 до 0.091 ед./мг белка у КБл-24. Максимум эстеразной активности выявлен в семенах КБел-72, где также зафиксирована достаточно высокая удельная активность РНКазы. Причем спектр множественных форм эстераз был также стабилен во всех исследуемых образцах семян *G. soja* и выявил по три формы фермента с одинаковой электрофоретической подвижностью. Возможно, повышение эстеразной активности обусловле-

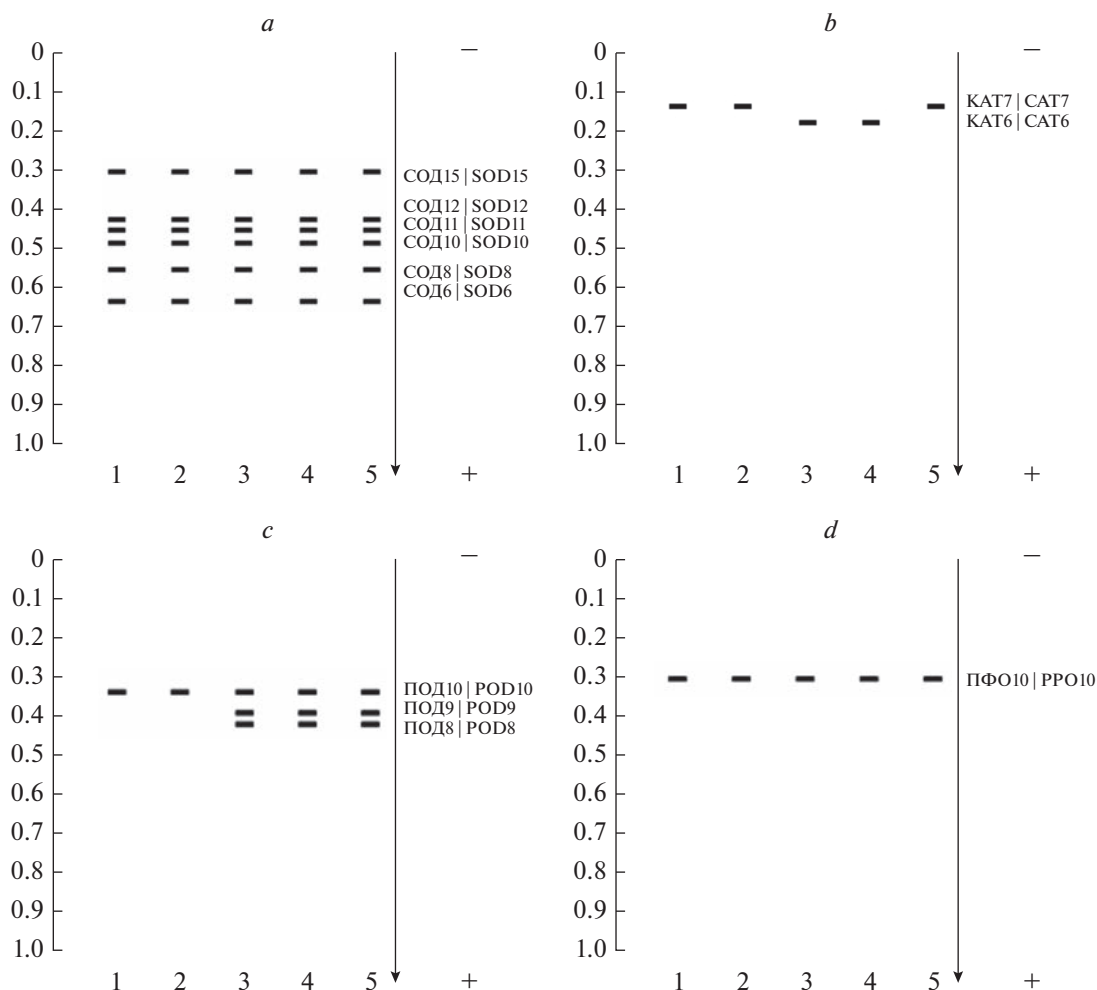


Рис. 6. Схемы энзимогрaмм оксидоредуктаз (супероксиддисмyтаз (a), каталаз (b), пероксидаз (c) и полифенолоксидаз (d)) семян *Glycine soja* Sieb. & Zucc. По горизонтaли: 1 – КБл-24, 2 – КБл-29, 3 – КБел-72, 4 – КА-342, 5 – КА-1413; по вертикали: относительная электрофоретическая подвижность (Rf). → – направление электрофореза от катода к аноду.

Fig. 6. Enzymogram schemes of the oxidoreductases (superoxide dismutases (a), catalases (b), peroxidases (c) and polyphenol oxidases (d)) of wild soybean seeds. X-axis: 1 – KBl-24, 2 – KBl-29, 3 – KBel-72, 4 – KA-342, 5 – KA-1413; y-axis: Relative electrophoretic mobility (Rf). → – electrophoresis direction from cathode to anode.

но усилением метаболизма, вызванного гидролизом сложных эфиров. Удельная активность амилазы в семенах исследуемых образцов *G. soja* повышена (71–80 ед./мг белка), по сравнению с семенами культурной сои (в среднем 55 ед./мг белка), что свидетельствует об усиленном гидролизе крахмала. Множественные формы амилаз семян образцов *G. soja* различались по числу форм фермента. Одна форма фермента выявлена в семенах, собранных в Архаринском р-не, что соотносится с одинаковой удельной активностью амилазы. Максимум множественных форм амилазы (3 формы) выявлен в семенах сои КБл-29 и КБел-72.

Анализ результатов энзиматической активности выявил высокое сходство образцов из Архаринского района по гидролазам, СОД, КАТ и различия по ПОД и ПФО, и незначительные разли-

чия в электрофоретических спектрах (кроме КАТ). Электрофоретические спектры исследуемых ферментов семян дикой сои, полученных из разных районов, практически не отличались друг от друга (за исключением ферментов КАТ, ПОД и амилазы). Следует отметить, что повышенной гетерогенностью в семенах дикой сои обладают СОД, ПОД, РНКаза и эстераза, которые можно использовать как маркеры адаптации.

Таким образом, на основании результатов исследования энзиматической активности и биохимического состава семян различных образцов дикой сои, рекомендуется использовать образец *G. soja* КА-1413 для введения в селекцию в качестве источника генов, что будет способствовать повышению адаптивного потенциала вновь созданных сортов сои. Это подтверждает сбаланси-

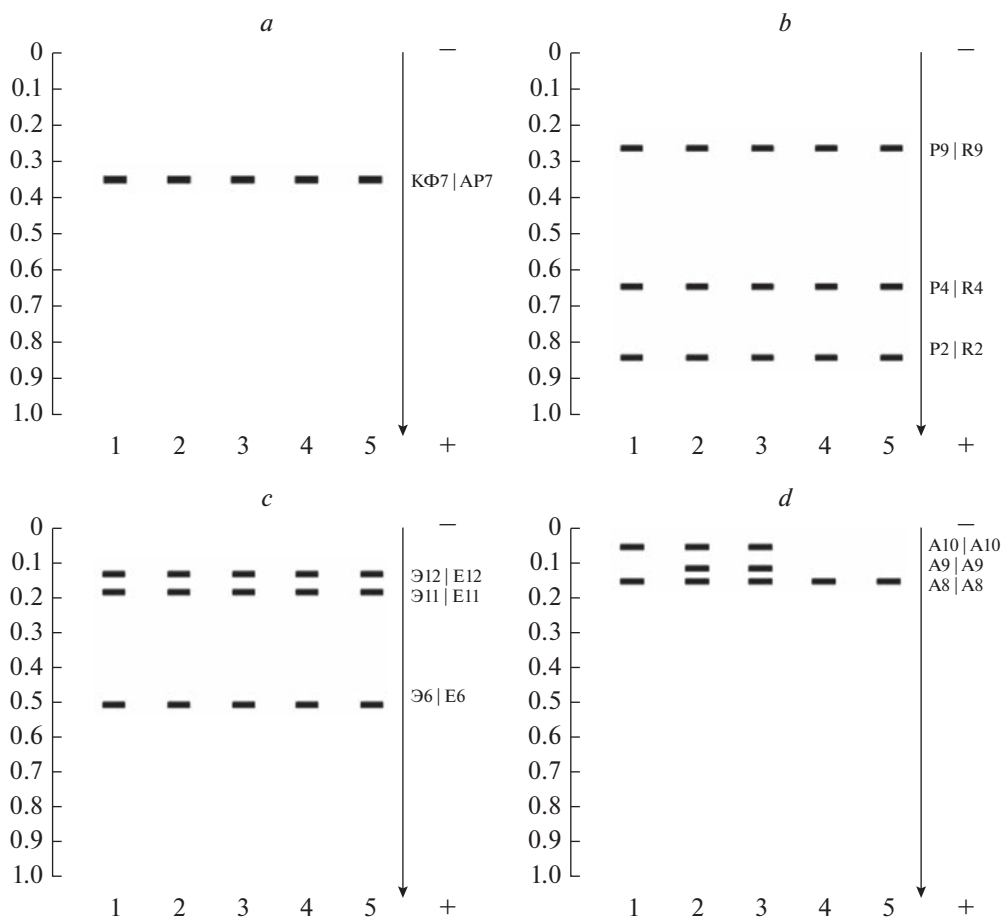


Рис. 7. Схемы энзимогрaмм гидролаз (кислых фосфатаз (a), рибонуклеаз (b), эстераз (c), амилаз (d)) семян *Glycine soja* Sieb. et Zucc. По горизонтали: 1 – КБл-24, 2 – КБл-29, 3 – КБел-72, 4 – КА-342, 5 – КА-1413; по вертикали: относительная электрофоретическая подвижность (Rf). → – направление электрофореза от катода к аноду.

Fig. 7. Enzymogram schemes of the hydrolases (acid phosphatases (a), ribonucleases (b), esterases (c), amylases (d)) of wild soybean seeds. X-axis: 1 – KBI-24, 2 – KBI-29, 3 – KBel-72, 4 – KA-342, 5 – KA-1413; y-axis: relative electrophoretic mobility (Rf). → – electrophoresis direction from cathode to anode.

рованный обмен фосфатов, липидов, углеводов и нуклеиновых кислот.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для повышения адаптивного потенциала создаваемых сортов *Glycine max* (L.) Merr. (культурной сои) и введения их в селекцию в качестве источника устойчивых генов, целесообразно отбирать образцы *Glycine soja* Sieb. et Zucc. (дикая соя) с высокими биохимическими показателями компонентов, низким значением активности ПФО и повышенной активностью СОД, эстеразы и РНКазы.

Показано, что этим требованиям соответствует образец КА-1413 (содержание белка составляет 47.37%; содержание олеиновой кислоты – 30.02%, линоленовой кислоты – 13.74%, линолевой кислоты – 51.09%; $A_{\text{уд}}(\text{ПФО}) = 2.00 \pm 0.02$ ед./мг белка; $A_{\text{уд}}(\text{СОД}) = 182 \pm 14$ ед./мг белка; $A_{\text{уд}}(\text{РНКазы}) = 0.093 \pm 0.011$ ед./мг белка; $A_{\text{уд}}(\text{Э}) = 0.091 \pm 0.008$ ед./мг белка). Повышенной гетерогенностью в семенах дикой сои обладают СОД, ПОД, РНКазы и эстеразы, которые можно использовать как маркеры процесса адаптации к условиям среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kofsky J., Zhang H., Song B.H. 2018. The Untapped Genetic Reservoir: The Past, Current, and Future Applications of the Wild Soybean (*Glycine soja*). – Front. Plant Sci. 9: 949. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00949>
2. Zhuang Y., Li X., Hu J., Xu R., Zhang D. 2022. Expanding the gene pool for soybean improvement with its wild relatives. – aBIOTECH. 3(2): 115–125. <https://doi.org/10.1007/s42994-022-00072-7>

3. Тучкова Т.П., Душко О.С. 2016. Изучение хозяйственно ценных признаков у диких форм сои в Приамурье. — Дальневосточный аграрный вестник. 4(40): 80–85.
<https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30682421>
4. Ала А.Я. 2000. Изучение коллекции дикой сои по хозяйственно ценным и морфологическим признакам. — Вопросы биологии и технологии возделывания сои на Дальнем Востоке России. Благовещенск. С. 26–31.
5. Nawaz M.A., Yang S.H., Rehman H.M., Baloch F.S., Lee J.D., Park J.H., Chung G. 2017. Genetic diversity and population structure of Korean wild soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.) inferred from microsatellite markers. — Biochem.Sys. Ecol. 71: 87–96.
<https://doi.org/10.1016/j.bse.2017.02.002>
6. Недолужко А.В. 2008. Исследование генетической структуры популяций дикой сои, как элемент изучения биобезопасности генетически модифицированных растений в центрах происхождения и разнообразия вида: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 26 с.
7. Козак М.Ф. 2004. Вопросы эволюционной морфологии и цитогенетики сои. Астрахань. 166 с.
<https://science.asu.edu.ru/index.php/files/download/3646>
8. Тихонов А.В., Мартынов В.В., Дорохов Д.Б. 2011. Изучение взаимовлияния субпопуляций дикой сои (*Glycine soja*) в долине реки Цукановки на юге Дальнего Востока России. — Цитология и генетика. 45(4): 16–22.
<https://doi.org/10.3103/S0095452711040116>
9. Nawaz M.A., Yang S.H., Chung G. 2018. Wild Soybeans: An Opportunistic Resource for Soybean Improvement. — In: Rediscovery of Landraces as a Resource for the Future. InTech.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.74973>
10. Xavier A., Jarquin A.D., Howard R., Ramasubramanian V., Specht J.E., Graef G.L., Beavis W.D., Diers B.W., Song Q., Cregan P.B., Nelson R., Mian R., Shannon J.G., McHale L., Wang D., Schapaugh W., Lorenz A.J., Xu S., Muir W.M., Rainey M. 2018. Genome-Wide analysis of grain yield stability and environmental interactions in a multiparental soybean population. — G3: Genes Genomes Genetics. 8(2): 519–529.
<https://doi.org/10.1534/g3.117.300300>
11. Zhou Z., Jiang Y., Wang Z., Gou Z., Lyu J., Li W., Yu Y., Shu L., Zhao Y., Ma Y., Fang C., Shen Y., Liu T., Li C., Li Q., Wu M., Wang M., Wu Y., Dong Y., Wan W., Wang X., Ding Z., Gao Y., Xiang H., Zhu B., Lee S.H., Wang W., Tian X. 2015. Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean. — Nature Biotechnology. 33(4): 408–415.
<https://doi.org/10.1038/nbt.3096>
12. Hyten D.L., Song Q., Zhu Y., Choi I.Y., Nelson R.L., Costa J.M., Specht J.E., Shoemaker R.C., Cregan P.B. 2006. Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. — PNAS. 103(45): 16666–16671.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0604379103>
13. Ала А.Я. 2001. Использование генофонда дикой и культурной сои в генетико-селекционных исследованиях. — В сб.: Генетические ресурсы культурных растений: Мат. межд. научн. конф. Санкт-Петербург. С. 195–196.
14. Ала В.С. 2006. Передача наследственной информации от родителей к потомкам у межвидовых гибридов сои *G. max* × *G. soja*. — В сб.: Научное обеспечение соеводства Дальнего Востока и Сибири: сб. науч. трудов. Благовещенск. С. 35–41. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36293445>
15. Козак М.Ф. 2018. Результаты исследований гибридов культурной и дикорастущей сои. Естественные науки. 1(62): 7–27.
16. Минькач Т.В., Селихова О.А. 2019. Селекционно-генетический анализ межвидовых гибридов сои первого поколения. — Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 8(178): 48–54.
<http://vestnik.asau.ru/index.php/vestnik/article/view/830/817>
17. Калицкая Н.Г., Синеговская В.Т., Кобозева Т.П. 2021. Оценка межвидовых и внутривидовых гибридов сои первого поколения. — Вестник российской сельскохозяйственной науки. 6: 4–7.
<https://doi.org/10.30850/vrsn/2021/6/4-7>
18. Chen Q., Wang X., Yuan X., Shi J., Zhang C., Yan N., Jing C. 2021. Comparison of phenolic and flavonoid compound profiles and antioxidant and α-glucosidase inhibition properties of cultivated soybean (*Glycine max*) and wild soybean (*Glycine soja*). — Plants. 10(4): 813.
<https://doi.org/10.3390/plants10040813>
19. Li Y.H., Li W., Zhang C., Yang L., Chang R.Z., Gaut B.S., Qiu L.J. 2010. Genetic diversity in domesticated soybean (*Glycine max*) and its wild progenitor (*Glycine soja*) for simple sequence repeat and single-nucleotide polymorphism loci. — New Phytol. 188(1): 242–253.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03344.x>
20. Ала А.Я., Ала В.С., Тучкова Т.П., Ван Лан. 2009. Характеристика генофонда дикой и культурной сои рода *Glycine* Willd. — Состояние и перспективы научного обеспечения АПК Дальнего Востока. С. 65–71.
21. Иваченко Л.Е., Коничев А.С. 2016. Роль биологически активных веществ сои в адаптации к условиям выращивания. М. 154 с.
22. Kambhampati S., Aznar-Moreno J.A., Hostetler C., Caso T., Bailey S.R., Hubbard A.H., Durrett T.P., Allen D.K. 2020. On the Inverse Correlation of Protein and Oil: Examining the Effects of Altered Central Carbon Metabolism on Seed

- Composition Using Soybean Fast Neutron Mutants. — *Metabolites*. 10(1): 18.
<https://doi.org/10.3390/metabo10010018>
23. Asekova S., Chae J.H., Ha B.K., Dhakal K.H., Chung G., Shannon J.G., Lee J.D. 2014. Stability of elevated α -linolenic acid derived from wild soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) across environments. — *Euphytica*. 195(3): 409–418.
<https://doi.org/10.1007/s10681-013-1004-1>
 24. Иваченко Л.Е., Селихова О.А., Ала А.Я., Ала В.С. 2011. Влияние погодных условий выращивания на биохимический состав семян и морфологические показатели дикорастущей сои. — *Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук*. 4(158): 67–72. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=20598576>
 25. Lavrent'yeva S.I., Ivachenko L.Y., Golokhvast K.S., Nawaz M.A. 2019. Ribonuclease activity of *Glycine max* and *Glycine soja* sprouts as a marker adaptation to copper sulphate and zinc sulphate toxicity. — *Biochemical Systematics and Ecology*. 83: 66–70.
<https://doi.org/10.1016/j.bse.2019.01.007>
 26. Chang Y., Zhang J., Bao G., Yan B., Qu Y., Zhang M., Tang W. 2020. Physiological Responses of Highland Barley Seedlings to NaCl, Drought, and Freeze-Thaw Stress. — *Journal of Plant Growth Regulation*. 40(1): 154–161.
<https://doi.org/10.1007/s00344-020-10085-5>
 27. Chaudhary J., Deshmukh R., Mir Z.A., Bhat J.A. 2019. Metabolomics: An Emerging Technology for Soybean Improvement. — In: *Biotechnology Products in Everyday Life*. EcoProduction. Springer. P. 175–186.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-92399-4_12
 28. Шарова Е.И., Медведев С.С., Демидчик В.В. 2020. Аскорбат в апопласте: метаболизм и функции. — *Физиология растений*. 67(2): 115–129.
<https://doi.org/10.31857/S0015330320020153>
 29. Маханова Р.С. 2011. К вопросу изучения перекисного окисления липидов. — *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 1(29): 231–234. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=15613202>
 30. Тютяев Е.В. 2015. Состояние фотосинтетических пигментов в листьях инбредных линий и гибридов кукурузы. — *Физиология растений и генетика*. 47(2): 147–159.
 31. Хайрулина Т.П., Семенова Е.А. 2013. Действие температурного и водного стрессоров на содержание низкомолекулярных антиоксидантов в семенах сои. — *Вестник КрасГАУ*. 2(77): 22–26.
<https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18964545>
 32. Колесникова М.В. 2018. Активность ферментов полифенолоксидазы и пероксидазы под влиянием совместной заправки соломы озимой пшеницы и штамма *Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016. — *Научный альманах*. 4–3(42): 200–204. <http://ucom.ru/doc/na.2018.04.03.200.pdf>
 33. Xin J., Zhao X.H., Tan Q.L., Sun X.C., Zhao Y.Y., Hu C.X. 2019. Effects of cadmium exposure on the growth, photosynthesis, and antioxidant defense system in two radish (*Raphanus sativus* L.) cultivars. — *Photosynthetica*. 57(4): 967–973.
<https://doi.org/10.32615/ps.2019.076>
 34. Никерова К.М., Галибина Н.А., Мощенская Ю.Л., Новицкая Л.Л., Подгорная М.Н., Софронова И.Н. 2018. Ферменты антиоксидантной системы — индикаторы разных сценариев ксилогенеза: в раннем онтогенезе и во взрослом состоянии (на примере *Betula pendula* Roth). — *Труды Карельского научного центра Российской академии наук*. 6: 68–80.
<https://doi.org/10.17076/eb787>
 35. Kawano T. 2003. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. — *Plant cell reports*. 21(9): 829–837.
<https://doi.org/10.1007/s00299-003-0591-z>
 36. Луцкий Е.О., Сундырева М.А., Хаблюк В.В. 2019. Влияние водного и температурного стресса на активность антиоксидантных ферментов винограда. — *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 56(02): 110–121.
<https://doi.org/10.30679/2219-5335-2019-2-56-110-121>
 37. Jumrani K., Bhatia V.S. 2019. Interactive effect of temperature and water stress on physiological and biochemical processes in soybean. — *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 25(3): 667–681.
<https://doi.org/10.1007/s12298-019-00657-5>
 38. Li Z., Kitov P.I., Kitova E.N., Mozenah F., Rodrigues E., Chapla D.G., Moremen K.W., Macauley M.S., Klassen J.S. 2020. CUPRA-ZYME: An Assay for Measuring Carbohydrate-Active Enzyme Activities, Pathways, and Substrate Specificities. — *Anal. Chem*. 92(4): 3228–3236.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05007>
 39. Zhou Q., Xiao Q., Zhang Y., Wang X., Xiao Y., Shi D. 2019. Pig liver esterases PLE1 and PLE6: heterologous expression, hydrolysis of common antibiotics and pharmacological consequences. — *Scientific reports*. 9: 15564.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-51580-4>
 40. Конарев В.Г. 1983. Белки растений как генетические маркеры. М. 320 с.
 41. Глазко В.И. 2000. Генетически детерминированный полиморфизм ферментов у некоторых сортов сои (*Glycine max*) и дикой сои (*Glycine soja*). — *Цитология и генетика*. 34(2): 83–90.
 42. Коницев А.С., Попов А.П., Цветков И.Л., Филков П.В. 2005. Ферменты как биохимические маркеры загрязнения воды. — *Приложение к Вестнику МГОУ. Серия “Естественные науки”*. География, экология, экономика: актуальные проблемы науки и образования. М. С. 151–153.

43. Мухина Ж.М., Дубина Е.В. 2011. Молекулярные маркеры и их использование в селекционно-генетических исследованиях. — Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 66(02): 97–107. <http://ej.kubagro.ru/2011/02/pdf/09.pdf>
44. Sharma A., Tripathi M.K., Tiwari S., Gupta N., Tripathi N., Mishra N. 2021. Evaluation of Soybean (*Glycine max* L.) Genotypes on the Basis of Biochemical Contents and Anti-oxidant Enzyme Activities. — Legume Res. — An International Journal. 44(12): 1419–1429. <https://doi.org/10.18805/LR-4678>
45. Mohan M., Nair S., Bhagwat A., Krishna T.G., Yano M., Bhatia C., Sasaki T. 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. — Molecular Breeding. 3(2): 87–103. <https://doi.org/10.1023/A:1009651919792>
46. Иваченко Л.Е. 2011. Ферменты как маркеры адаптации сои к условиям выращивания. Благовещенск. 192 с.
47. Samadi N., Saeidi-sar S., Abbaspour H., Masoudian N. 2020. Measuring Genes Expression Involved in Enzymatic Defense and ABA Biosynthesis in *Solanum lycopersicum* L. (Red Cloud Cultivar) under Cold Stress. — Russian Journal of Plant Physiology. 67(1): 131–138. <https://doi.org/10.1134/S1021443720010173>
48. Castañeda-Alvarez N.P., Khoury C.K., Achicanoy H.A., Bernau V., Dempewolf H., Eastwood R.J., Guarino L., Harker R.H., Jarvis A., Maxted N., Müller J.V., Ramirez-Villegas J., Sosa C.C., Struik P.C., Vincent H., Toll J. 2016. Global conservation priorities for crop wild relatives. — Nature plants. 2: Article ID 16022. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.22>
49. Бондаренко О.Н., Блинова А.А., Иваченко Л.Е., Лаврентьева С.И. 2022. Подбор микросателлитных локусов ДНК для создания молекулярно-генетических паспортов диких форм и сортов сои амурской селекции. — Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. 2(222): 37–48. https://doi.org/10.37102/0869-7698_2022_222_02_3
50. Система земледелия Амурской области: производственно-практический справочник. 2016. Благовещенск. 570 с.
51. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. 2016. Практикум по биохимии сельскохозяйственной продукции: учеб. пособие для вузов. СПб. 480 с.
52. Коробко В.В., Касаткин М.Ю. 2017. Физиология растений: большой практикум. Саратов. 120 с.
53. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. — J. Biol. Chem. 193(1): 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
54. Плешков Б.П. 1985. Практикум по биохимии растений. М. 175 с.
55. Ермаков А.И. 1987. Методы биохимического исследования растений. Л. 430 с.
56. Иваченко Л.Е., Кашина В.А., Маскальцова Е.С., Разаницей В.И., Стасюк Е.М., Трофимцова И.А. 2008. Методы изучения полиморфизма ферментов сои: учебное пособие. Благовещенск. 142 с.
57. Стручкова И.В., Калысова Е.А. 2012. Теоретические и практические основы проведения электрофореза белков в полиакриламидном геле: Электронное учебно-методическое пособие. Нижний Новгород. 60 с. http://www.unn.ru/pages/e-library/methodmaterial/files/Struchkova_Kalyasova.pdf
58. Левитес Е.В. 1986. Генетика изоферментов растений. Новосибирск. 145 с.
59. Wendel J.F., Weeden N.F. 1989. Visualization and Interpretation of Plant Isozymes. — In Isozymes in Plant Biology. Springer. P. 5–45. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1840-5_2
60. Сибгатуллина Г.В., Хаертдинова Л.Р., Гумерова Е.А., Акулов А.Н., Костюкова Ю.А., Никонорова Н.А., Румянцев Н.И. 2011. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений: учебно-методическое пособие. Казань. 61 с.
61. Лаврентьева С.И., Якименко М.В. 2013. Влияние агроэкологических условий выращивания на рибонуклеазную активность сои. Благовещенск. 128 с.
62. Кочетов Г.А. 1980. Практическое руководство по энзимологии. Учебное пособие для студентов биологических специальностей вузов. М. 272 с.
63. Xu W., Zhang N., Zhang Z., Jing P. 2019. Effects of dietary cyanidin-3-diglucoside-5-glucoside complexes with rutin/Mg(II) against H₂O₂-induced cellular oxidative stress. — Food research international. 126: Article ID. 108591. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108591>
64. Розова М.А., Зиборов А.И. 2016. Корреляционные связи урожайности яровой твердой пшеницы с элементами ее структуры в зависимости от уровня продуктивности генотипов и погодных условий в Приобской лесостепи Алтайского края. — Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2(136): 44–49. <https://www.asau.ru/files/vestnik/2016/2/044-049.pdf>
65. Akond M., Liu S., Boney M., Kantartzi S.K., Meksem K., Bellaloui N., Lightfoot D.A., Kassem M.A. 2014. Identification of Quantitative Trait Loci (QTL) Underlying Protein, Oil, and Five Major Fatty Acids' Contents in Soybean. — Am. J. Pant Sci. 5(1): 158–167. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.51021>

66. Ohlrogge J.B., Browse J. 1995. Lipid biosynthesis. — *The Plant Cell*. 7(7): 957–970.
<https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.957>
67. Takagi Y., Hossain A.M., Yanagita T., Kusaba S. 1989. High linolenic acid mutant in soybean induced by X-ray irradiation. — *Jpn. J. Breed.* 39(4): 403–409.
<https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.39.403>
68. Сангаев С. С. 2010. Изучение роли экстраклеточных рибонуклеаз на модели трансгенных растений табака (*Nicotiana tabacum* L.): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск. 16 с.
<https://www.dissercat.com/content/izuchenie-rol-ekstrakletochnykh-ribonukleaz-na-modeli-transgennykh-rastenii-tabaka>

Chemical Composition of *Glycine soja* (Fabaceae) Seeds from the Amur Region Territory

S. I. Lavrent'yeva^{a, b, *}, L. E. Ivachenko^{a, b}, A. A. Blinova^a, O. N. Bondarenko^a, V. A. Kuznetsova^c

^aAll-Russian Scientific Research Institute of Soybean, Blagoveshchensk, Russia

^bBlagoveshchensk State Pedagogical University, Blagoveshchensk, Russia

^cVavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Vladivostok, Russia

*e-mail: lana.lavrenteva.1984@mail.ru

Abstract—Wild soybean *Glycine soja* Sieb. & Zucc., the wild ancestor of the cultivated soybean *Glycine max* (L.) Merr., is the source of many valuable genes missing in the genotype of cultivated soybean, including stress resistance to adverse environmental factors. The biochemical parameters (protein, oil, ascorbic acid, carotene, higher fatty acids, specific activity and multiple forms of enzymes of the oxidoreductase and hydrolase classes) of five forms of wild soybeans from the collection of the All-Russian Research Institute of Soybean, which are unique natural gene banks, were studied. The wild seeds were collected for in three districts of the Amur Region (Arkharinsky, Blagoveshchensk, Belogorsky) and grown on the crop rotation field. The obtained results of enzymatic activity (superoxide dismutase, catalase, peroxidase, polyphenol oxidase, ribonuclease, acid phosphatase, esterase and amylase) and biochemical parameters of the studied seeds of wild soybean forms allowed us to identify the form KA-1413 with high biochemical parameters (protein, oleic and linolenic acids), a low specific polyphenol oxidase activity, and an increased activity of superoxide dismutases, esterases and ribonucleases. Thus, the wild soybean form KA-1413 can be recommended as a source of dominant genes, which will help to increase the adaptive potential of new soybean varieties. The increased heterogeneity of multiple forms of SOD, AML, RNase and esterase in wild soybean seeds can be used as adaptation markers to environmental conditions.

Keywords: *Glycine soja*, ascorbic acid, carotene, higher fatty acids, oxidoreductases, hydrolases, specific activity, multiple forms

REFERENCES

1. Kofsky J., Zhang H., Song B.H. 2018. The Untapped Genetic Reservoir: The Past, Current, and Future Applications of the Wild Soybean (*Glycine soja*). — *Front. Plant Sci.* 9: 949.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00949>
2. Zhuang Y., Li X., Hu J., Xu R., Zhang D. 2022. Expanding the gene pool for soybean improvement with its wild relatives. — *aBIOTECH.* 3(2): 115–125.
<https://doi.org/10.1007/s42994-022-00072-7>
3. Tushkova T.P., Dushko O.S. 2016. Study of economically valuable traits in wild forms of soy in Priamurye. — *Far East Agrarian Bulletin.* 4(40): 80–85. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30682421> (In Russian)
4. Ala A. Ya. 2000. [The study of the collection of wild soybeans by economically valuable and morphological characteristics]. — In: [Issues of biology and technology of the soybean's cultivation in the Russian Far East]. Blagoveshchensk. P. 26–31. (In Russian)
5. Nawaz M.A., Yang S.H., Rehman H.M., Baloch F.S., Lee J.D., Park J.H., Chung G. 2017. Genetic diversity and population structure of Korean wild soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.) inferred from microsatellite markers. — *Biochem. Sys. Ecol.* 71: 87–96.
<https://doi.org/10.1016/j.bse.2017.02.002>
6. Nedoluzhko A.V. 2008. [The study of the genetic structure of wild soybean populations as an element of studying the biosafety of genetically modified plants in the centers of origin and diversity of the species: Abstr. Dis. ... Cand. (Biology) Sci.]. Moscow. 26 p. (In Russian)

7. Kozak M.F. 2004. [Questions of evolutionary morphology and cytogenetics of soybean]. Astrakhan. 166 p. <https://science.asu.edu.ru/index.php/files/download/3646> (In Russian)
8. Tikhonov A.V., Martynov V.V., Dorokhov D.B. 2011. Study of interactions between wild soybean subpopulations (*Glycine soja*) in the valley of the Tsukanovka river in the south of Russia's Far East. — Cytology and Genetics. 45(4): 214–219. <https://doi.org/10.3103/S0095452711040116> (In Russian)
9. Nawaz M.A., Yang S.H., Chung G. 2018. Wild Soybeans: An Opportunistic Resource for Soybean Improvement. — In: Rediscovery of Landraces as a Resource for the Future. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74973>
10. Xavier A., Jarquin A.D., Howard R., Ramasubramanian V., Specht J.E., Graef G.L., Beavis W.D., Diers B.W., Song Q., Cregan P.B., Nelson R., Mian R., Shannon J.G., McHale L., Wang D., Schapaugh W., Lorenz A.J., Xu S., Muir W.M., Rainey M. 2018. Genome-Wide analysis of grain yield stability and environmental interactions in a multiparental soybean population. — G3: Genes Genomes Genetics. 8(2): 519–529. <https://doi.org/10.1534/g3.117.300300>
11. Zhou Z., Jiang Y., Wang Z., Gou Z., Lyu J., Li W., Yu Y., Shu L., Zhao Y., Ma Y., Fang C., Shen Y., Liu T., Li C., Li Q., Wu M., Wang M., Wu Y., Dong Y., Wan W., Wang X., Ding Z., Gao Y., Xiang H., Zhu B., Lee S.H., Wang W., Tian X. 2015. Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean. — Nature Biotechnology. 33(4): 408–415. <https://doi.org/10.1038/nbt.3096>
12. Hyten D.L., Song Q., Zhu Y., Choi I.Y., Nelson R.L., Costa J.M., Specht J.E., Shoemaker R.C., Cregan P.B. 2006. Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. — PNAS. 103(45): 16666–16671. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604379103>
13. Ala A.Ya. 2001. The use of the gene pool of wild and cultivated soybeans in genetic breeding research. — In: [Genetic resources of cultural plants: Proceedings of International conference]. Saint Petersburg. P. 195–196. (In Russian)
14. Ala V.S. 2006. Transfer of hereditary information from parents to offspring in interspecific soybean hybrids *G. max* × *G. soja*. — In: [Scientific support of soybean production in the Far East and Siberia]. Blagoveshchensk. P. 35–41. (In Russian)
15. Kozak M.F. 2018. The results studies of hybrids of cultured and wild soybean. — Yestestvennye Nauki. 1(62): 7–27. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36293445> (In Russian)
16. Minkach T.V., Selikhova O.A. 2019. Selection and genetic analysis of interspecific first-generation soybean hybrids. — Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 8(178): 48–54. <http://vestnik.asau.ru/index.php/vestnik/article/view/830/817> (In Russian)
17. Kalietskaya N.G., Sinegovskaya V.T., Kobozeva T.P. 2021. Assessment of intra- and inter-species of the first-generation soybean hybrids. — Vestnik of the Russian Agricultural Science. 6: 4–7. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2021/6/4-7> (In Russian)
18. Chen Q., Wang X., Yuan X., Shi J., Zhang C., Yan N., Jing C. 2021. Comparison of phenolic and flavonoid compound profiles and antioxidant and α-glucosidase inhibition properties of cultivated soybean (*Glycine max*) and wild soybean (*Glycine soja*). — Plants. 10(4): 813. <https://doi.org/10.3390/plants10040813>
19. Li Y.H., Li W., Zhang C., Yang L., Chang R.Z., Gaut B.S., Qiu L.J. 2010. Genetic diversity in domesticated soybean (*Glycine max*) and its wild progenitor (*Glycine soja*) for simple sequence repeat and single-nucleotide polymorphism loci. — New Phytol. 188(1): 242–253. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03344.x>
20. Ala A.Ya., Ala V.S., Tuchkova T.P., Wang Lang 2009. Characteristics of the gene pool of wild and cultivated soybeans of the genus *Glycine willd.* — In: [State and prospects of the scientific support of the agribusiness industry in the Far East]. P. 65–71. (In Russian)
21. Ivachenko L.E., Konichev A.S. 2016. [The role of soybean biologically active substances in adaptation to growing conditions]. Moscow. 154 p. (In Russian)
22. Kambhampati S., Aznar-Moreno J.A., Hostetler C., Caso T., Bailey S.R., Hubbard A.H., Durrett T.P., Allen D.K. 2020. On the Inverse Correlation of Protein and Oil: Examining the Effects of Altered Central Carbon Metabolism on Seed Composition Using Soybean Fast Neutron Mutants. — Metabolites. 10(1): 18. <https://doi.org/10.3390/metabo10010018>
23. Asekova S., Chae J.H., Ha B.K., Dhakal K.H., Chung G., Shannon J.G., Lee J.D. 2014. Stability of elevated α-linolenic acid derived from wild soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) across environments. — Euphytica. 195(3): 409–418. <https://doi.org/10.1007/s10681-013-1004-1>
24. Ivachenko L.E., Selikhova O.A., Ala A.J., Ala V.S. 2011. Influence of weather conditions cultivation on morphological parameters and biochemical structure of wild soya. — Vestnik of Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences. 4(158): 67–72. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=20598576> (In Russian)
25. Lavrent'yeva S.I., Ivachenko L.Y., Golokhvast K.S., Nawaz M.A. 2019. Ribonuclease activity of *Glycine max* and *Glycine soja* sprouts as a marker adaptation to copper sulphate and zinc sulphate toxicity. — Biochemical Systematics and Ecology. 83: 66–70. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2019.01.007>

26. Chang Y., Zhang J., Bao G., Yan B., Qu Y., Zhang M., Tang W. 2020. Physiological Responses of Highland Barley Seedlings to NaCl, Drought, and Freeze-Thaw Stress. — *Journal of Plant Growth Regulation*. 40(1): 154–161. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10085-5>
27. Chaudhary J., Deshmukh R., Mir Z.A., Bhat J.A. 2019. Metabolomics: An Emerging Technology for Soybean Improvement. — In: *Biotechnology Products in Everyday Life*. EcoProduction. Springer. P. 175–186. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92399-4_12
28. Sharova E.I., Medvedev S.S., Demidchik V.V. 2020. Ascorbate in the Apoplast: Metabolism and Functions. — *Russ. J. Plant Physiol.* 67(2): 207–220. <https://doi.org/10.1134/S1021443720020156>
29. Makhanova R.S. 2011. [On the problem of peroxide lipid oxidation]. — *Izvestiya Orenburg State Agrarian University*. 1(29): 231–234. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=15613202> (In Russian)
30. Tyutyayev E.V. 2015. The state of photosynthetic pigments in the leaves of inbred lines and hybrids of corn. — *Plant physiology and genetics*. 47(2): 147–159. (In Russian)
31. Hayrulina T.P., Semenova E.A. 2013. The temperature and water stressors impact on the low-molecular antioxidant content in soya seeds. — *The Bulletin of KrasSAU*. 2(77): 22–26. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18964545> (In Russian)
32. Kolesnikova M.V. 2018. The activity of enzymes polyphenol oxidase and peroxidase under the effect of the joint plowing of straw of winter wheat and strain of *Humicola fuscoatra* VNIIS 016. — *Science Almanac*. 4–3(42): 200–204. <http://ucom.ru/doc/na.2018.04.03.200.pdf> (In Russian)
33. Xin J., Zhao X.H., Tan Q.L., Sun X.C., Zhao Y.Y., Hu C.X. 2019. Effects of cadmium exposure on the growth, photosynthesis, and antioxidant defense system in two radish (*Raphanus sativus* L.) cultivars. — *Photosynthetica*. 57(4): 967–973. <https://doi.org/10.32615/ps.2019.076>
34. Nikerova K.M., Galibina N.A., Moshchenskaya Yu.L., Novitskaya L.L., Podgornaya M.N., Sofronova I.N. 2018. The antioxidant enzymes — indicators of different xylogenesis scenarios: in early ontogeny and in adult plants (example of *Betula pendula* Roth). — *Transactions of KarRC RAS*. 6: 68–80. <https://doi.org/10.17076/eb787> (In Russian)
35. Kawano T. 2003. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. — *Plant cell reports*. 21(9): 829–837. <https://doi.org/10.1007/s00299-003-0591-z>
36. Lutskiy E.O., Sundryeva M.A., Khablyuk V.V. 2019. Influence of water and temperature stress the activity of antioxidant enzyme of grapes. — *Fruit growing and viticulture of South Russia*. 56(02): 110–121. <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2019-2-56-110-121> (In Russian)
37. Jumrani K., Bhatia V.S. 2019. Interactive effect of temperature and water stress on physiological and biochemical processes in soybean. — *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 25(3): 667–681. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00657-5>
38. Li Z., Kitov P.I., Kitova E.N., Mozenah F., Rodrigues E., Chapla D.G., Moremen K.W., Macauley M.S., Klassen J.S. 2020. CUPRA-ZYME: An Assay for Measuring Carbohydrate-Active Enzyme Activities, Pathways, and Substrate Specificities. — *Anal. Chem.* 92(4): 3228–3236. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05007>
39. Zhou Q., Xiao Q., Zhang Y., Wang X., Xiao Y., Shi D. 2019. Pig liver esterases PLE1 and PLE6: heterologous expression, hydrolysis of common antibiotics and pharmacological consequences. — *Scientific reports*. 9: Article ID 15564. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51580-4>
40. Konarev V.G. 1983. [Plant proteins as genetic markers]. Moscow. 320 p. (In Russian)
41. Glazko V.I. 2000. [Genetically determined enzyme polymorphism in soy varieties (*Glycine max*) and in wild soy (*Glycine soja*)]. — *Cytology and Genetics*. 34(2): 77–83.
42. Konichev A.S., Popov A.P., Tsvetkov I.L., Filkov P.V. 2005. Enzymes as biochemical markers of water pollution. — *Bulletin of the Moscow Region State University. Series: Natural Sciences*. Moscow. P. 151–153. (In Russian)
43. Mukhina Z.M., Dubina E.V. 2011. Molecular markers and how to use them in breeding and genetic researchers. — *Polythematic online scientific journal of Kuban state agrarian university*. 66(02): 97–107. <http://ej.kubagro.ru/2011/02/pdf/09.pdf> (In Russian)
44. Sharma A., Tripathi M.K., Tiwari S., Gupta N., Tripathi N., Mishra N. 2021. Evaluation of Soybean (*Glycine max* L.) Genotypes on the Basis of Biochemical Contents and Anti-oxidant Enzyme Activities. — *Legume Res.* 44(12): 1419–1429. <https://doi.org/10.18805/LR-4678>
45. Mohan M., Nair S., Bhagwat A., Krishna T.G., Yano M., Bhatia C., Sasaki T. 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. — *Molecular Breeding*. 3(2): 87–103. <https://doi.org/10.1023/A:1009651919792>
46. Ivachenko L.E. 2011. [Enzymes as markers of soybean adaptation to growing conditions]. Blagoveshchensk. 192 p. (In Russian)
47. Samadi N., Saeidi-sar S., Abbaspour H., Masoudian N. 2020. Measuring Genes Expression Involved in Enzymatic Defense and ABA Biosynthesis in *Solanum lycopersicum* L. (Red Cloud Cultivar) under Cold Stress. — *Russian Journal of*

- Plant Physiology. 67(1): 131–138.
<https://doi.org/10.1134/S1021443720010173>
48. Castañeda-Álvarez N.P., Khoury C.K., Achicanoy H.A., Bernau V., Dempewolf H., Eastwood R.J., Guarino L., Harker R.H., Jarvis A., Maxted N., Müller J.V., Ramirez-Villegas J., Sosa C.C., Struik P.C., Vincent H., Toll J. 2016. Global conservation priorities for crop wild relatives. — *Nature plants*. 2: Article ID 16022.
<https://doi.org/10.1038/nplants.2016.22>
 49. Bondarenko O.N., Blinova A.A., Ivachenko L.E., Lavrent'yeva S.I. 2022. Selection of microsatellite DNA loci for creating molecular genetic passports of wild forms and varieties of Amur soybean breeding. — *Vestnik of Far Eastern branch of Russian academy of sciences*. 2(222): 37–48.
https://doi.org/10.37102/0869-7698_2022_222_02_3 (In Russian)
 50. [System of agriculture of the Amur region: production and practical guide]. 2016. Blagoveshchensk. 570 p. (In Russian)
 51. Rogozhin V.V., Rogozhina T.V. 2016. [Practical course on the biochemistry of agricultural products: study guide for universities]. Saint Petersburg. 480 p. (In Russian)
 52. Korobko V.V., Kasatkin M.Yu. 2017. [Plant Physiology: extended practical course]. Saratov. 120 p. (In Russian)
 53. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. — *J. Biol. Chem.* 193(1): 265–275.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
 54. Pleshkov B.P. 1985. [Practical course on plant biochemistry]. Moscow. 175 p. (In Russian)
 55. Ermakov A.I. 1987. [Methods of biochemical plants studies]. Leningrad. 430 p. (In Russian)
 56. Ivachenko L.E., Kashina V.A., Maskal'tsova E.S., Razantsvey V.I., Stasyuk E.M., Trofimtsova I.A. 2008. [Methods for studying the polymorphism of soybean enzymes: a study guide]. Blagoveshchensk. 142 p. (In Russian)
 57. Struchkova I.V., Kal'yasova E.A. 2012. [Theoretical and practical foundations of protein electrophoresis in polyacrylamide gel: Electronic study guide]. Nizhny Novgorod. 60 p.
http://www.unn.ru/pages/e-library/methodmaterial/files/Struchkova_Kalyasova.pdf (In Russian)
 58. Levites E.V. 1986. [Genetics of plant isoenzymes]. Novosibirsk. 145 p. (In Russian)
 59. Wendel J.F., Weeden N.F. 1989. Visualization and Interpretation of Plant Isozymes. — In *Isozymes in Plant Biology*. Springer. P. 5–45.
https://doi.org/10.1007/978-94-009-1840-5_2
 60. Sibgatullina G.V., Khaertdinova L.R., Gumerova E.A., Akulov A.N., Kostyukova Yu.A., Nikonorova N.A., Rumyantseva N.I. 2011. [Methods for determining the redox status of cultivated plant cells: study guide]. Kazan. 61 p. (In Russian)
 61. Lavrent'yeva S.I., Yakimenko M.V. 2013. [Influence of agroecological growing conditions on soybean ribonuclease activity]. Blagoveshchensk. 128 p. (In Russian)
 62. Kochetov G.A. 1980. [A Practical Guide to Enzymology. Textbook for university biological students]. Moscow. 272 p. (In Russian)
 63. Xu W., Zhang N., Zhang Z., Jing P. 2019. Effects of dietary cyanidin-3-diglucoside-5-glucoside complexes with rutin/Mg(II) against H₂O₂-induced cellular oxidative stress. — *Food Res. Int.* 126: Article ID. 108591.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108591>
 64. Rozova M.A., Ziborov A.I. 2016. The correlations of spring durum wheat yield with its structural components depending on the genotype productivity level and weather conditions in Ob river forest-steppe of the Altai region. — *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2(136): 44–49. <https://www.asau.ru/files/vestnik/2016/2/044-049.pdf> (In Russian)
 65. Akond M., Liu S., Boney M., Kantartzi S.K., Meksem K., Bellaloui N., Lightfoot D.A., Kassem M.A. 2014. Identification of Quantitative Trait Loci (QTL) Underlying Protein, Oil, and Five Major Fatty Acids' Contents in Soybean. — *Am. J. Pant Sci.* 5(1): 158–167.
<https://doi.org/10.4236/ajps.2014.51021>
 66. Ohlrogge J.B., Browse J. 1995. Lipid biosynthesis. — *The Plant Cell*. 7(7): 957–970.
<https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.957>
 67. Takagi Y., Hossain A.M., Yanagita T., Kusaba S. 1989. High linolenic acid mutant in soybean induced by X-ray irradiation. — *Jpn. J. Breed.* 39(4): 403–409.
<https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.39.403>
 68. Sangaev S.S. 2010. [Study of the role of extracellular ribonucleases in transgenic model tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.): Abstr. ... Dis. Cand. (Biology) Sci.]. Novosibirsk. 16 p.
<https://www.dissercat.com/content/izuchenie-rol-ekstrakletochnykh-ribonukleaz-na-modeli-transgennykh-rasteniitabaka> (In Russian)