

OXIDASES ACTIVITY IN HIGHLY FERTILE SOD-PODZOLIC LIGHT LOAMY SOIL UNDER THE DIFFERENT LEVELS OF CROPS MINERAL NUTRITION

V.V. Lapa, N.A. Mikhailovskaya, S.A. Kasyanchyk, T.V. Pahiritskaya

Summary

In the conditions of a field experiment on highly cultivated sod-podzolic light loamy soil the authors determined biochemical indexes of humification activity in the main processes of aromatics oxidative polymerization. It was realized resulting from atmospheric oxygen (polyphenol oxidase) and peroxide oxygen (peroxidase) depending on the level of mineral nutrition of agricultural crops.

Поступила 27.10.16

УДК 634.74:631.533.3:581.143.6:631.82

МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ АРОНИИ ЧЕРНОПЛОДНОЙ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Н.В. Кухарчик

*Институт плодоводства,
пос. Самохваловичи, Минский район, Беларусь*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время арония становится популярной и перспективной культурой благодаря высокому содержанию биологически активных веществ (антиоксиданты, витамины) в плодах и их широкому использованию в промышленности в качестве добавок к сокам и красителя. В то же время, незначительное распространение культуры в промышленном плодоводстве определяет отсутствие информации о некоторых аспектах ее возделывания, в частности о минеральном питании. Культивирование растений *in vitro* может являться удобной моделью для первичного анализа потребности растений в элементах питания, поскольку исходный состав питательных сред четко определен, растения культивируют изолировано в пробирке, после определенного этапа микроразмножения можно оценить остаточное содержание элементов в питательной среде и накопление их растением. В то же время, поглощение элементов питания растениями-регенерантами *in vitro* может быть подвержено изменению в связи с выращиванием растений в условиях искусственного климата – постоянных положительных температур и стабильного освещения без изменения длины дня.

Исследования о минеральном питании плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro* немногочисленны и фрагментарны. Интерес представляют работы, показывающие как влияние отдельных элементов так и типа иона на морфогенез растений-регенерантов *in vitro*. Показано, что изменение соотношения нитратной

и аммонийной форм азота в питательной среде приводит к изменению морфогенеза растений *in vitro*. Использование в питательных средах только аммонийного азота приводило к заметному ослаблению роста микрорастений, в то время как при использовании только нитратной формы азота этот эффект был минимален. Использование только одной формы азота в питательных средах в любом случае приводило к снижению интенсивности вегетативного размножения *in vitro*. Количество доступного азота оказалось менее значимым фактором, чем отношение между нитратной и аммонийной формами, оптимальный морфогенез был достигнут в широком диапазоне концентраций, но лучшие результаты отмечены при использовании 40mM NO₃⁻ и 20mM NH₃⁺ (70:30) [1]. О влияниях абсолютных и относительных количеств нитрата и аммония на индукцию и дифференциацию клеточных культур растений *in vitro* сообщают и другие авторы [2–6]. Имеется информация о улучшении стимулирующего формирования боковых корней и их удлинение в случае использования в питательной среде только нитратной формы азота [7, 8].

Улучшение ризогенеза, в том числе количества корней отмечается в ответ на повышение концентрации кальция, что авторы объясняют способностью его стимулировать клеточное деление и улучшать транспорт ауксинов [9, 10]. Ухудшение корнеобразования отмечалось при дефиците цинка [10, 11] и бора [12], и напротив, в работе Н. Trindade and M.S. Pais [13] показано 10 % увеличение ризогенеза, в случае полного удаления бора из питательной среды. Положительное влияние уменьшения Fe и Mg в фазе индукции ризогенеза на увеличение числа корней и их длины отмечено W.C.Fang, С.Н. Kao [14] и Н. Marschner [15].

Цель исследований – определение химических аспектов питания аронии черноплодной при культивировании *in vitro* на этапах микроразмножения и ризогенеза.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Культуральные исследования проведены в отделе биотехнологии РУП «Институт плодородия», физико-химические анализы в ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси» в 2011–2015 гг.

Объекты исследований:

➤ растения-регенеранты аронии черноплодной на различных этапах культивирования *in vitro*;

➤ агаризованные питательные среды.

Методы проведения исследований:

➤ биотехнологические (культура апикальных меристем и микроразмножение *in vitro*);

➤ физико-химические (качественный и количественный анализ элементов в образцах питательных сред проведен с использованием системы ионной хроматографии ICS-3000 (Dionex, США/Германия) и атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой – спектрометр VISTA PRO (Varian, США))

Методика культивирования изолированных тканей *in vitro*.

Арония черноплодная имеет хорошую регенерационную способность в культуре *in vitro*, что определяет возможность получения требуемых количеств материала для исследований.

Для культивирования аронии черноплодной использовали минеральный состав питательных сред Мурасиге и Скуга (MS), в питательной среде для укоренения концентрацию солей уменьшали в два раза. Стерилизация сред велась при давлении 1 атм. в течение 15 минут. Незначительные изменения расчетных концентраций, содержащихся ионов и элементов, могут быть обусловлены добавлением в питательные среды углеводов (сахароза, 30 г/л), агар-агара (5 г/л), витаминов (В₁, В₆, РР, С по 0,5–1,0 мг/л) и биологически активных веществ (6-бензиладенина – 0,5 мг/л), испарением воды в процессе автоклавирования, поэтому для каждой партии питательной среды проводили химический анализ реальной концентрации ионов и элементов после автоклавирования.

Условия культивирования растений *in vitro*: освещение – 2,5–3 тыс. люкс, температура – 21–23°C, фотопериод – 16/8 часов. Длительность субкультивирования – 30–40 дней. Растения культивировали в пробирках размером 200×22 мм с объемом питательной среды 10 мл. (100 растений-регенерантов на 1 литр питательной среды). Анализ проводился в два срока – в 3-х кратной повторности каждый, для исследований отбирали не менее 10 пробирок с хорошо развитыми растениями-регенерантами. Данные по потреблению элементов питания растениями на этапе микроразмножения и ризогенеза рассчитаны как разница между их количеством в питательной среде на момент посадки растений в пробирки и извлечением через 30–40 дней культивирования.

Статистическая обработка проводилась в программе Microsoft Excel.

Методика пробоподготовки, качественного и количественного анализа элементов в образцах питательных сред с использованием системы ионной хроматографии и атомно-эмиссионной спектроскопии представлена в предыдущих публикациях [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Растения-регенеранты аронии черноплодной выращивались на искусственных питательных средах Мурасиге и Скуга (MS). Составляющие питательные среды макро- и микросоли являлись единственным источником питания растений в пробирках, поэтому при разработке питательной среды изначально учитывались средние значения потребления растениями элементов питания, без учета конкретных генотипов и условий культивирования. В питательной среде для размножения на момент высадки микрочеренков аронии черноплодной в среднем имеется 57 % NO₃⁻, далее в порядке убывания – K⁺, NH₄⁺, Cl⁻, SO₄²⁻, Ca²⁺, H₂PO₄⁻, Mg²⁺, а так же Fe, Mn, Na⁺, Zn, B, J, Mo, Co, Cu в количестве от 5,6 мг/л до 0,5 мг/л (0,13–0,0001 %) (табл., рис. 1, 2).

Необходимо отметить, что питательная среда MS хорошо подходит для выращивания растений-регенерантов аронии черноплодной. Относительное количество большинства потребляемых элементов питания соответствует их пропорциям в питательной среде. Исключение составляют ионы SO₄²⁻ и H₂PO₄⁻, потребление которых как на этапе размножения *in vitro*, так и на этапе ризогенеза пропорционально больше, чем в исходной питательной среде.

На обоих этапах культивирования нитратный азот составляет более половины от общего «рациона» растения. Однако, если на этапе размножения соот-

ношение потребления $\text{NO}_3/\text{NH}_4^+$ составляет 6,07, то на этапе ризогенеза – 3,85 (рис. 1). Отмечается существенное снижение количества (мг/л среды) потребляемого NO_3^- (в 2,2 раза) и на 40 % NH_4^+ (рис. 2), закономерность установлена нами и при анализе минерального питания смородины черной, клоновых подвоев вишни и не может быть обусловлена только снижением исходной концентрации солей (1/2 от исходной для всех солей) в питательной среде для ризогенеза [16].

Таблица

Соотношение элементов питания в искусственных средах для размножения *in vitro* аронии черноплодной

Анализируемая форма ионов и элементов	Концентрация ионов и элементов		Потребление элементов питания растениями-регенерантами в течение 1 пассажа			
	исходная		микроразмножения		ризогенеза	
	мг/л	%	мг/л	%	мг/л	%
K^+	784	18,35	80,82	10,15	49,08	11,99
Cl^-	212,2	4,97	26,51	3,33	10,04	2,45
SO_4^{2-}	167,6	3,92	47,62	5,98	34,65	8,47
Ca^{2+}	120	2,81	22,47	2,82	-7,06	-1,73
H_2PO_4^-	118,42	2,77	53,26	6,69	34,03	8,32
Mg^{2+}	36,48	0,85	7,37	0,93	8,91	2,18
Fe	5,6	0,13	1,60	0,20	2,62	0,64
Mn	5,4	0,13	0,52	0,06	0,65	0,16
Na^+	4,86	0,11	1,61	0,20	5,43	1,33
Zn	2,04	0,05	0,59	0,07	0,42	0,10
B	1,1	0,03	0	0	0,43	0,11
J	0,64	0,02	не определяли			
Mo	0,099	0,002				
Co	0,0067	0,0002				
Cu	0,0064	0,0001	0	0	0	0

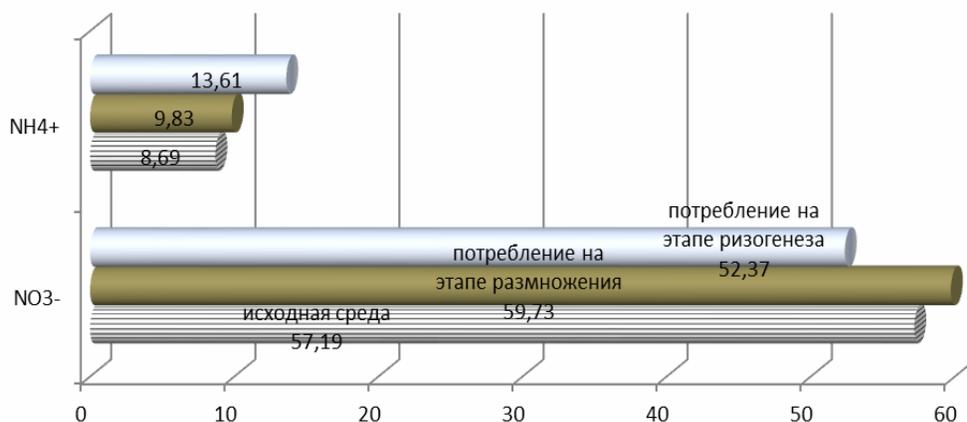


Рис. 1. Потребление из питательной среды аммонийного и нитратного азота растениями-регенерантами аронии черноплодной (% от общего содержания питательных элементов в среде)

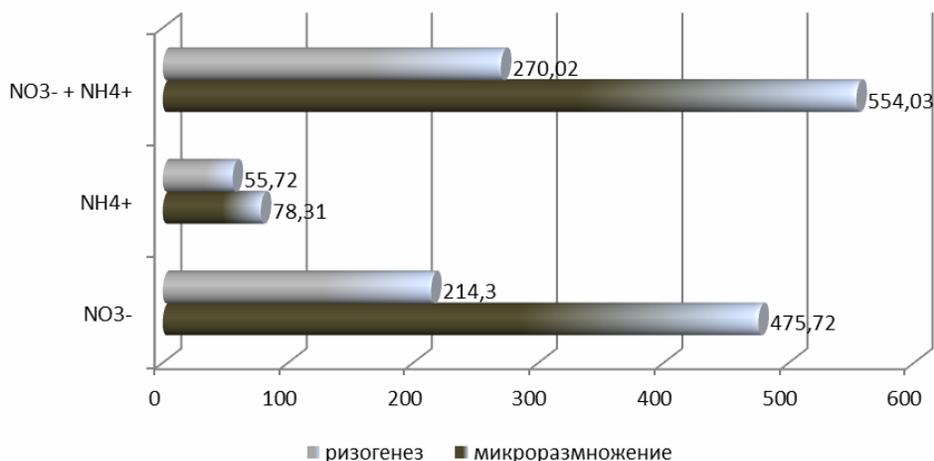


Рис. 2. Потребление из питательной среды аммонийного и нитратного азота растениями-регенерантами аронии черноплодной (мг/л)

Структура потребления элементов питания из искусственных питательных сред на этапе микроразмножения аронии черноплодной: NO₃⁻, K⁺, NH₄⁺, H₂PO₄⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, Ca²⁺, Mg²⁺, Fe, Mn, Zn, B. 10 % в структуре питания аронии *in vitro* составляет калий и около 6 % – фосфор и сера. Данные по потреблению микроэлементов из питательных сред при культивировании *in vitro* растений-регенерантов имеют достаточно большую разницу по повторностям (до 0,01 %), что, при их незначительном количестве, определяет необходимость в дальнейшем параллельно использовать для анализа результаты оценки накопления микроэлементов в растениях. Крайне незначительное количество меди, добавляемое в питательную среду, не позволяет диагностировать методом атомно-эмиссионной спектрометрии ее изменения в процессе выращивания растений регенерантов всех культур как на этапе микроразмножения, так и на этапе ризогенеза. Аналогичные результаты получены и при предварительном количественном анализе йода, молибдена и кобальта.

В процессе культивирования растений-регенерантов *in vitro*, происходит не только существенное снижение концентрации основных элементов питания, но и уменьшение количества воды в питательной среде за счет испарения и потребления эксплантами. Это приводит к тому, что остаточная концентрация элементов питания в среде не соответствует разнице между первоначальной концентрацией и количеством элементов, поглощенных микрорастениями (рис. 3). Концентрация ионов Na⁺, K⁺, Cl⁻, которые незначительно расходуется эксплантами в процессе роста, через месяц культивирования становится выше первоначальной. Это приводит к изменению соотношения элементов питания в искусственной среде через 30–40 дней культивирования и препятствует нормальному росту растений в культуре *in vitro*. Проведенные исследования показывают, что, отмечавшееся ранее истощение питательной среды, как один из факторов, определяющих необходимость регулярных пересадок растений, не соответствует действительности. Представленные данные соответствуют результатам, полученным при изучении остаточных питательных сред после культивирования смородины черной, клоновых подвоев вишни и сливы.

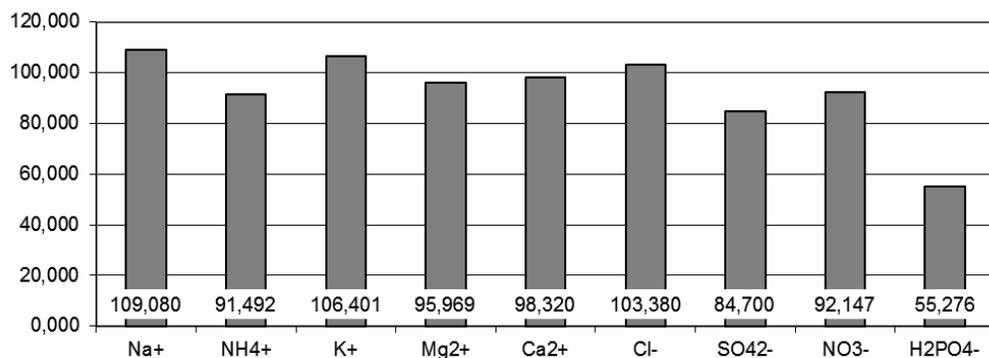


Рис. 3. Остаточное количество ионов в питательной среде после пассажа микроразмножения арони черноплодной (среднее по образцам)

В ходе ризогенеза, как и на этапе микроразмножения, остаточная концентрация ионов в питательной среде выше, чем расчетная (рис. 4). Особенно значительно увеличение концентрации отмечено для ионов кальция, которых на треть становится больше чем на момент посадки растений. Увеличивается также содержание ионов калия, хлора и нитратного азота. Концентрация аммонийной формы азота в питательной среде, через месяц культивирования эксплантов, остается прежней, несмотря на значительное потребление растениями.

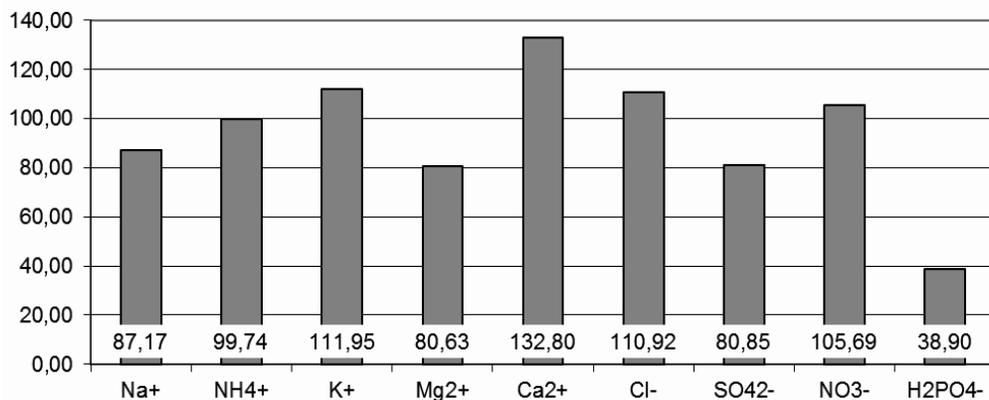


Рис. 4. Остаточное количество ионов в питательной среде после этапа ризогенеза арони черноплодной (среднее по образцам)

ВЫВОДЫ

На этапе микроразмножения *in vitro* растениями-регенерантами арони черноплодной из питательной среды максимально используется нитратная форма азота (NO₃⁻), затем в порядке убывания: K⁺, NH₄⁺, H₂PO₄⁻, SO₄²⁻, Ca²⁺, Mg²⁺.

На этапе ризогенеза растений-регенерантов арони черноплодной снижается потребление азота из питательной среды: NO₃⁻ – в 2,2 раза, NH₄⁺ – на 40 %.

Установлено существенное изменение исходного соотношения ионов: повышение концентрации отдельных ионов (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+}) в питательной среде к концу пассажа, за счет неравномерного использования их растениями как на этапе микроразмножения, так и на этапе ризогенеза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ramage, C.M.* Mineral Nutrition and Plant Morphogenesis / C.M. Ramage, R.R. Williams // In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant. – 2002. – Vol. 38, № 2. – P. 116–124.
2. *Sathyanarayana, B.N., Blake J.* The effect of nitrogen sources and initial pH of the media with or without buffer on in vitro rooting of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam) / In: Lumsden PJ, Nicholas JR, Davies WJ, eds. Physiology, growth and development of plants in culture. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1994. – P. 77–82.
3. *Walch, Liu P.* Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis/ Liu P. Walch, G. Neumann, F. Bangerth, G. Engels // Journal of Experimental Botany. – 2000. – Vol. 51. – P. 227–237.
4. *Joy, R.W.* Nitrogen metabolism in cultured cotyledons of *Pinus radiata* during de novo organogenesis / R.W. Joy, L. Bender, T.A. Thorpe // Physiologia Plantarum. – 1994. – Vol. 92. – P. 681–688.
5. *Zhang, H.* Dual pathways for regulation of root branching by nitrate / H. Zhang, A. Jennings, P.W. Barlow // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1999. – Vol. 96. – P. 6529–6534.
6. *Zhang, H.* Regulation of Arabidopsis root development by nitrate availability / H. Zhang, and B.G. Forde // J. Exp. Bot. – 2000. – Vol. 51. – P. 51–59.
7. *Bellamine, J.* Confirmation of the role of auxin and calcium in the late phases of adventitious root formation / J. Bellamine, C. Penel, H. Greppin and T. Gaspar. // Plant Growth Regul. – 1998. – Vol. 26. – P. 191–194.
8. *Blazich, F.A.* Mineral nutrition and adventitious rooting / In Adventitious Rooting Formation in Cuttings / F.A. Blazich // Advances in Plant Sciences Series. 1988. – Vol. 2. Eds. T. Davis, B.E. Haissig and N. Sankhla. Dioscorides Press, Portland, OR, 1988. – P. 61–69.
9. *Dell, B.* Effect of zinc supply on growth of three species of Eucalyptus seedlings and wheat / B. Dell and S.A. Wilson // Plant Soil. – 1985. – Vol. 88. – P. 377–384.
10. *Lukaszewski, K.M.* Root growth inhibition in boron-deficient or aluminum-stressed squash may be a result of impaired ascorbate metabolism / K.M. Lukaszewski, D.G. Blevins // Plant Physiology. – 1996. – Vol. – 112. – P.1135–1140.
11. *Trindade, H.* In vitro studies on Eucalyptus globulus rooting ability / In Vitro Cell Devel / H. Trindade, M.S. Pais // Biol. Plant. – 1997. – Vol. 33. – P. 1–5.
12. *Fang, W.C.* Enhanced peroxidase activity in rice leaves in response to excess iron, copper and zinc / W.C. Fang, C.H. Kao // Plant Sci. – 2000. – Vol. 158. – P. 71–76.
13. Минеральное питание и морфогенез при культивировании in vitro некоторых плодовых и ягодных культур / Н.В. Кухарчик [и др.] // Плодоводство: науч. тр. / Ин-т плодоводства; редкол.: В.А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2013. – Т. 25. – С. 227–235.

**MINERAL NUTRITION OF ARONIA MELANOCARPA ELLIOT DURING
IN VITRO CULTIVATION ON ARTIFICIAL NUTRIENT MEDIUM****N.V. Kukharchyk****Summary**

The research was conducted at the Biotechnology Department of the RUE «Institute for Fruit Growing» and the Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus. The chemical composition of the nutrient medium for Aronia melanocarpa Elliot plants cultivation *in vitro* on micropropagation and root formation stages was determined with the use of ion chromatography and atomic emission spectroscopy. Nutrient intake structure was established, ion usage difference at the various stages of *in vitro* growing is shown. The authors have established the significant change of ions starting ratio, increasing concentration of individual ions in the nutrient medium by the end of the cultivation, due to their uneven consumption by the plants.

Поступила 26.11.16

УДК 631.41

**ПРОЯВЛЕНИЕ ФИЗИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ
ПАХОТНЫХ ПОЧВ УКРАИНЫ И ПУТИ ЕЕ ПРЕОДОЛЕНИЯ
(аналитический обзор)****И.В. Плиско***Институт почвоведения и агрохимии имени А.Н. Соколовского,
г. Харьков, Украина***ВВЕДЕНИЕ**

Термин «деградация» происходит от латинского слова «degradatio», что буквально означает «снижение». Применительно к почвам существует немало различных определений этого явления. В работе А.Л. Иванова и др. [1] приведены различные определения деградации почв из отечественных и зарубежных источников. Наиболее исчерпывающим определением деградации почв, на наш взгляд, является следующее: «это совокупность природных и антропогенных процессов, приводящих к изменению функций почв, количественного и качественного ухудшения их состава, свойств, режимов и природно-хозяйственной ценности».

Анализ литературных источников, особенно фундаментальных монографий, подготовленных под руководством В.В. Медведева [2], Г.В. Добровольского [3] и R. Lal [4], позволяют нам выделить основные причины физической деградации пахотных почв, среди которых основными являются повышенная склонность почв среднего и тяжелого гранулометрического состава (далее – грансостава), которые