

УДК 634.11:631.816.12:631.559

**ВЛИЯНИЕ МАКРОЭЛЕМЕНТА АЗОТА В СОСТАВЕ
ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД, ПРИ РАЗМНОЖЕНИИ РАСТЕНИЙ В
КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

Марина Борисовна Янковская^{1,2}

специалист, педагог ДО

mary.janck@yandex.ru

Александр Юрьевич Трунов²

учитель биологии

alexander_myces@mail.ru

Элина Олеговна Невзорова²

учащаяся

enevzorova37@smail.com

¹Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина

²ТОГАОУ «Мичуринский лицей»

Мичуринск, Россия

Аннотация. В статье приведен обзор влияния минерального питания на рост растений. Рассмотрено влияние разных концентраций азота в составе питательных сред на размножение растений в культуре *invitro*. Даны практические рекомендации по применению эффективных дозировок элемента.

Ключевые слова: культура *invitro*, макроэлементы, минеральное питание, азот, ежевика, рябина, сорт.

Для нормальной жизнедеятельности растению необходимы минеральные вещества, которые выполняют в клетке целый ряд структурных и регуляторных функций. Минеральным питанием растений называется процесс усвоения минеральных элементов из субстрата, на котором они произрастают.

Любой организм нормально развивается только в том случае, если ему доступны вещества и энергия, необходимые для осуществления всех процессов жизнедеятельности.

Минеральное питание – один из важнейших приемов регулирования роста и плодоношения плодовых растений, повышения урожайности и качества плодов. Современные знания теории минерального питания растений являются основой рационального применения удобрений, ставящих задачу получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур хорошего качества, целенаправленного регулирования плодородия почвы [1-3].

При разработке питательных сред в культуре *invitro* рассчитывают определенные концентрации необходимых макро- и микро-элементов. При модификации, то есть изменении, минерального состава для определенных видов растений, возможно несколько изменять пропорции и соотношение элементов питания. Таким образом, изолированная культура может служить хорошей моделью при изучении роли отдельных химических соединений для процессов роста и развития растений.

Исследователи, работающие с культурой тканей, указывают на значительные видовые и сортовые различия растений по потребностям к минеральному и гормональному составу среды и другим факторам культивирования. Это требует постоянного решения задачи оптимизации состава питательных сред и совершенствования методов размножения и адаптации применительно к каждой новой форме, вводимой в условия *invitro* [4-8].

Таким образом, понимание специфики ответа биотехнологически размножаемых растений на модификацию питательных сред приводит к

получению новых знаний о механизмах и условиях их культивирования *in vitro*, что определяет актуальность темы.

Объектом нашего исследования были растения ежевики сорта Тайберри и рябины черноплодной, размножаемые микроклональным способом на базе лаборатории биотехнологии «Агрокуб», а его *предметом* – влияние недостатка и избытка азота на эффективность размножения эксплантов.

Цель работы: изучить особенности процесса развития эксплантов ежевики сорта Тайберри и рябины черноплодной в зависимости от содержания азота в питательной среде, выявить оптимальные условия микроразмножения.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе лаборатории биотехнологии «Агрокуб» ТОГАОУ «Мичуринский лицей».

Материалы и оборудование: стерильные микропобеги ежевики сорта Тайберри и рябины черноплодной, стерильный пинцет и скальпель, чашки Петри, спиртовка, спирт, пищевая пленка, стерильная питательная среда для укоренения.

Для хранения химических реагентов, приготовления маточных растворов макро- и микроэлементов в качестве необходимых составляющих питательных сред, приготовления готовых питательных сред и их стерилизации требуются соответствующим образом оборудованные помещения:

- моечная, оборудованная дистиллятором и сушильным шкафом;
- комната для приготовления питательных сред, маточных растворов;
- автоклавная [9,10].

Остальные операции и, собственно, проведение работ с растительными объектами проводят в условиях операционной комнаты, оборудованной ламинар-боксами разного типа.

После проведения операций непосредственно в ламинар-боксе сосуды с микрорастениями переносят в культуральную комнату, оборудованную кондиционером и 2-, 3-ярусными стеллажами с лампами дневного света.

Люминоста́т подключают к реле времени, что позволяет устанавливать требуемый фотопериод. Желательно, чтобы в культуральной комнате находился термостат с регулируемым температурным режимом. Для размножения микрочеренков использовали питательную среду по прописи Кворина-Лепуавра (QL) (Quoirin, Lepoivre, 1977), модифицированная Якобини-Стандарди (Jacobini, Standardi, 1982).

В наших исследованиях мы уменьшили и увеличили дозы аммонийной и нитратной формы азота относительно базовой прописи питательной среды Кворина-Лепуавра (QL).

Варианты опыта:

1. Норма (по прописи процентное соотношение аммонийной и нитратных форм азота следующее)

NH_4NO_3 400 мг/л 35%,
 KNO_3 1800 мг/л 14%
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 1200 мг/л 17,07%

2. Недостаток азота (уменьшение по весу на 1 литр раствора питательной среды)

NH_4NO_3 114,3 мг/л 10%,
 KNO_3 900 мг/л 7%
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 801,4 мг/л 11,4%

3. Избыток азота (увеличение массы азотных соединений в 2 раза при расчете на 1 литр раствора питательной среды)

NH_4NO_3 800 мг/л 70%,
 KNO_3 3600 мг/л 28%
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 2400 мг/л 34,2%

При приготовлении питательной среды для микроклонирования в небольшом количестве воды растворяли необходимое количество углеводов, добавляли макроэлементы – 100 мг/л, микроэлементы – 1 мг/л, полученный объем доводили до 1 литра дистиллированной водой. Кислотность среды доводили до уровня pH 5,6-5,8, используя однонормальный раствор щелочи (NaOH), который добавляли по каплям, сверяясь с показаниями pH-метра. Затем в плоскодонные колбы (0,5 л.) насыпали по 4 г агара и разливали в них приготовленную питательную среду. Каждую колбу закрывали фольгой и

пергаментной бумагой и автоклавировали готовые среды в течение 30 минут при давлении в 1 атм.

На следующем этапе в расплавленный питательный раствор добавляли витамины и регуляторы роста и готовую среду разливали по стерильным культуральным сосудам (70 мл среды на колбу объемом 250 мл). Затем в условиях ламинар-бокса хирургическим скальпелем вычленили верхушечные части побега с 2-3 узлами и при помощи пинцета высаживали по 8 эксплантов в колбы с разлитой средой. Колбы закрывали алюминиевой фольгой и заматывали пищевой пленкой.

Культивирование проводили при световом режиме 16/8, температуре 21-22 °С и освещенности 2000-2500 люкс.

Зависимыми переменными в опыте являлись длина побегов и количество побегов на один эксплант (коэффициент размножения).

Эксперимент проводился в трехкратной повторности, учет показателей роста и размножения вели еженедельно. Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли методами описательной статистики [4] в программной среде Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение

Культивирование эксплантов ежевики и черноплодной рябины на среде с недостатком и избытком азота показало видовую специфичность изучаемых культур. Первые учеты, как числа новообразованных побегов, так и их длины не показали четкую закономерность. Анализ результатов можно было сделать только после месяца культивирования. Коэффициент размножения у эксплантов ежевики заметно отличался во всех вариантах опыта и ожидаемо был выше на среде с содержанием азота по прописи и составил 2,6 побега на эксплант. Самый низкий показатель размножения отмечен при уменьшении содержания азота вдвое - 1,25 побега на эксплант. А при повышенном содержании азота, коэффициент размножения составил в среднем 2 побега на эксплант (Рис. 1).

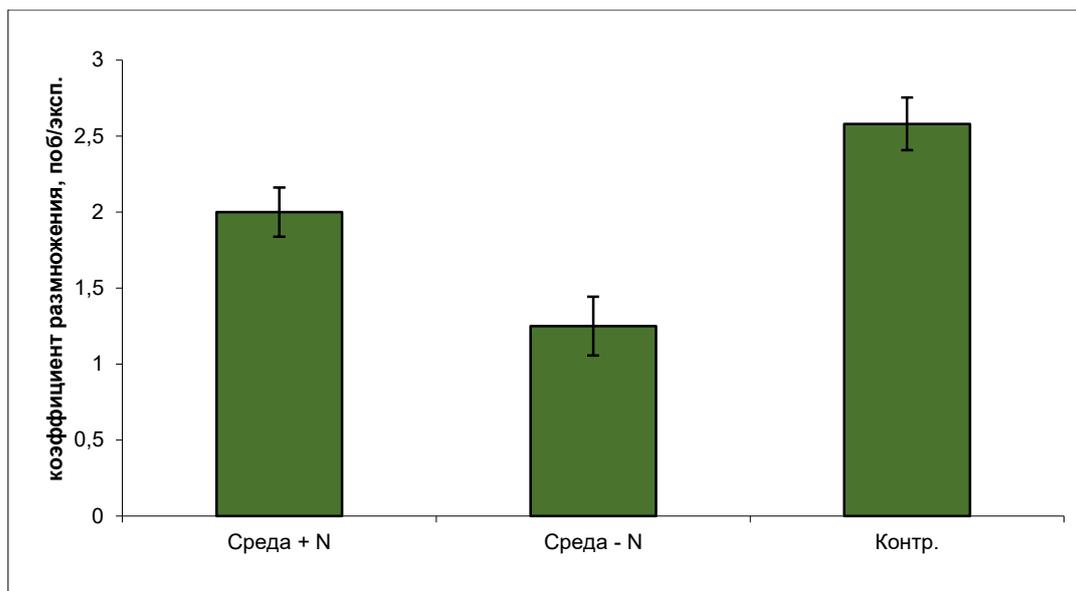


Рисунок 1– Влияние содержания форм азота на размножение эксплантов ежевики сорта Тайберри.

Хотя у эксплантов черноплодной рябины в контрольном варианте также был наибольший показатель, однако, между вариантами с недостатком и избытком азота разница очень небольшая и статистически недостоверная, учитывая стандартное отклонение. В численном значении по вариантам показатель составил соответственно: 7,9; 7 и 2,1 побега на эксплант (Рис. 2).

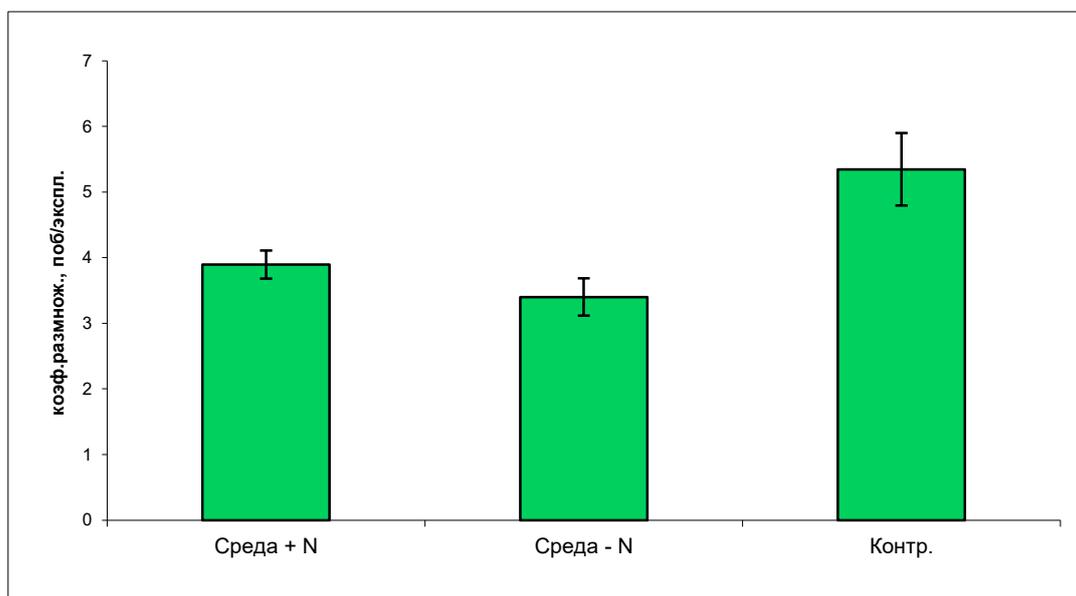


Рисунок 2– Влияние содержания форм азота на размножение эксплантов черноплодной рябины.

Анализ подсчета средней длины побега выявил, в общем, похожую тенденцию. Однако здесь у обеих культур различия в контрольном варианте и варианте с избыточным содержанием азота минимальны. У побегов ежевики

наблюдается резкое уменьшение длины побегов при недостатке азота и составляет 2,1 мм против 7-8 мм в других вариантах (Рис. 3).

Снижение показателя роста побегов у эксплантов черноплодной рябины не столь критично и составляет 16 мм против 25-27 мм в варианте с избытком азота и в контроле (Рис. 4).

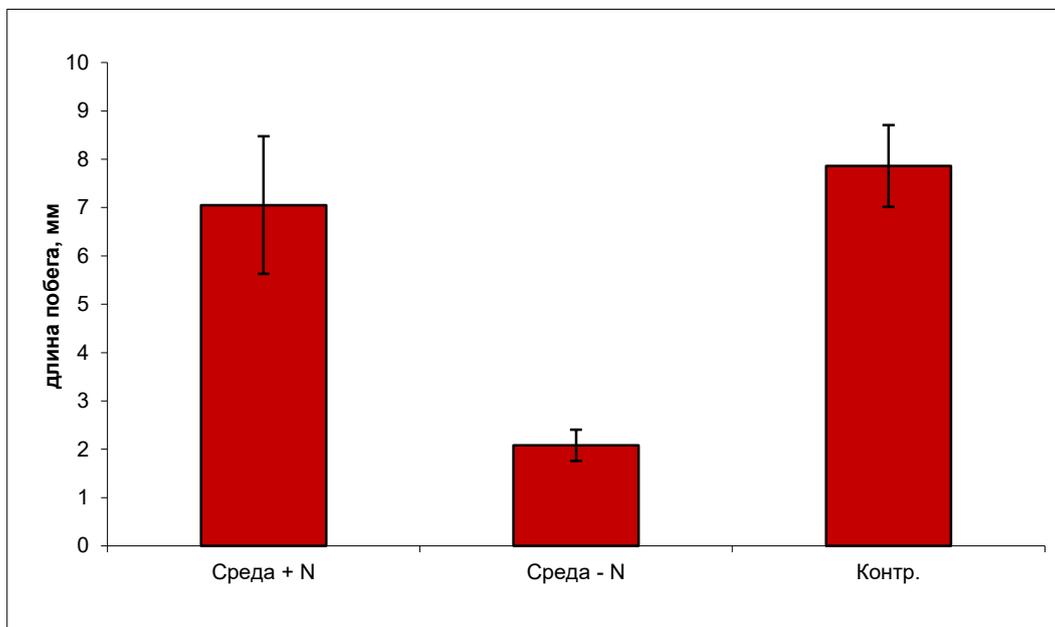


Рисунок 3 – Влияние содержания форм азота на рост новообразованных побегов ежевики сорта Тайберри.

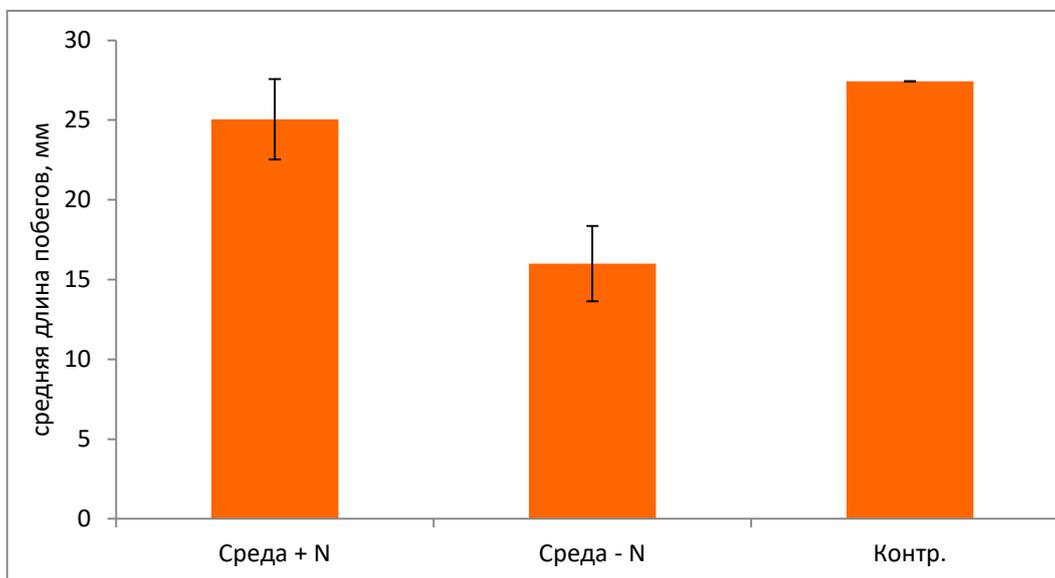


Рисунок 4 - Влияние содержания форм азота на рост новообразованных побегов черноплодной рябины.

Обращают на себя внимание различия в общем состоянии микропобегов ежевики и черноплодной рябины. Наблюдается пожелтение нижних листьев и слабый рост у ежевики в варианте с недостатком азота и некоторая деформация листьев при его избытке по сравнению с контрольным вариантом. У

эксплантов черноплодной рябины отличия несущественны, имеется небольшое пожелтение нижних листьев при недостатке азота. Однако общее состояние намного улучшилось после 2-х месяцев культивирования.

Выводы

Выявлена зависимость основных показателей роста и развития микропобегов различных культур в условиях *invitro*. Недостаток азота снизил коэффициент размножения изучаемых культур в 2 раза. Влияние недостатка и избытка азота в минеральном составе питательной среды подтверждается литературными данными о нарушениях азотного питания в открытом грунте.

Заключение

Проведенный нами опыт наглядно продемонстрировал зависимость роста и размножения эксплантов в условиях изолированной культуры от концентрации одного из основных элементов питания в базовой среде культивирования. Конечно, не нужно забывать о том, что уменьшая или увеличивая содержание азота разных его форм, мы уменьшали содержание калия и кальция. Но основное действие на размножение и рост побегов оказал все-таки азот.

Хорошо проявилась видоспецифичность изучаемых культур. Наибольшее влияние дисбаланс в содержании азота оказал на микрочеренки ежевики. Зависимость от данного элемента у черноплодной рябины гораздо менее выражена.

Проведенный опыт продемонстрировал необходимость полноценного сбалансированного состава питательной среды при микроклональном размножении. Однако, для каждой культуры все-таки возможна некоторая модификация, то есть изменения минерального состава среды для достижения наилучшего эффекта. Подтверждается возможность использования изолированной культуры для отработки баланса минерального питания растений.

Список литературы:

1. Михайлова Л.А., Субботина М.Т., Алешин М.А. Удобрение и диагностика минерального питания плодово-ягодных культур: учебное пособие. Пермь. 2019. С.
2. Самсонова Н.Е. Основы минерального питания растений и технологий применения удобрений: учебное пособие. Смоленск. 2021.
3. Кондаков А.К., Трунов Ю.В., Грезнев О.А., Сироткина О.А., Трунов А.А. Современная система минерального питания и удобрения плодовых и ягодных растений // Земледелие и растениеводство, НТП, Достижения науки и техники АПК. 2009. № 2.
4. Высоцкий В.А. Некоторые итоги и перспективы использования методов культуры изолированных тканей и органов в садоводстве // История, современность и перспективы развития садоводства России: Матер. междунар. конф., Москва, 15-17 ноября 2000 г. М., 2000. С. 163-191.
5. Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю. Клональное микроразмножение растений: Учеб. методич. пособие. Казань. 2012. 56 с.
6. Упадышев М.Т., Высоцкий В.А. Размножение ежевики и малины черной методом культуры тканей // Садоводство и виноградарство. 1991. №6. С.24-27.
7. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука. 1983.96 с.
8. Высоцкий В.А. Клональное микроразмножение растений// Культура клеток растений и биотехнология. М.: Наука. 1986.С.91-102.
9. Муратова С. А., Папихин Р.В., Янковская М.Б. Влияние различных углеводов на регенерацию, размножение и рост растений *in vitro* // Плодоводство и ягодоводство России. 2012. Т. 31. № 2. С. 86-94. – EDN OWEFXB.
10. Папихин Р. В., Муратова С.В., Ревенко В.В. Влияние цеолитсодержащего минерального комплекса «Доктор грунт» на рост и развитие ягодных культур на этапе адаптации микрорастений, полученных *in*

vitro // Материалы II Международной научно - практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений», Ялта, 13–15 октября 2021 года. Ялта: Общество с ограниченной ответственностью «Издательство Типография «Ариал» (Симферополь)/ 2021. С. 139-140. – DOI 10.36305/2021-2-139-140. – EDN KNNBAN.

UDC 634.11:631.816.12:631.559

**INFLUENCE OF THE MACROELEMENT NITROGEN IN THE COMPOSITION
OF NUTRIENT MEDIA,
WHEN PROPAGATING PLANTS IN CULTURE *IN VITRO***

Marina B. Yankovskaya^{1,2}

specialist, preschool teacher

mary.janck@yandex.ru

Alexander Yu. Trunov²

biology teacher

alexander_myces@mail.ru

Elina OI. Nevzorova²

student

enevzorova37@smail.com

¹Federal Scientific Center named after I.V. Michurin

²TOAOU «Michurinsky Lyceum»

Michurinsk, Russia

Abstract. The article provides an overview of the influence of mineral nutrition on plant growth. The influence of different nitrogen concentrations in the

composition of nutrient media on plant reproduction in *in vitro* culture is considered. Practical recommendations for the use of effective dosages of the element are given.

Key words: *in vitro* culture, macrolelements, mineral nutrition, nitrogen, blackberry, rowan, variety.

Статья поступила в редакцию 30.01.2025; одобрена после рецензирования 21.03.2025; принята к публикации 31.03.2025.

The article was submitted 30.01.2025; approved after reviewing 21.03.2025; accepted for publication 31.03.2025.