

УДК 663.252:631.81:634.1

**ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЙ
МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ РЕЖИМА
ПИТАНИЯ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР**

Сергеева Наталья Николаевна
канд. с.-х. наук,
ст. науч. сотр. лаборатории
агрохимии и мелиорации

Якуба Юрий Фёдорович
канд. техн. наук, доцент,
зав. ЦКП приборно-аналитическая

*Государственное научное учреждение
Северо-Кавказский зональный научно-
исследовательский институт
садоводства и виноградарства ФАНО
России, Краснодар, Россия*

В статье описан метод диагностики содержания катионов в тканях и органах плодовых культур с использованием системы капиллярного электрофореза. Излагаемая последовательность этапов проведения анализа методически опирается на известные физиолого-агрохимические способы экспресс-оценки функционального состояния растений. Режимы пробоподготовки и анализа экстрактов основаны на оригинальных методиках электрофоретического метода исследования вегетативных органов растений. Указаны оптимальные сроки отбора проб и проведения анализов. Сроки отбора проб приурочены к фазам вегетации. Метод позволяет оценить уровень активности обменных процессов у яблони при применении удобрений. Приводятся результаты диагностирования обеспеченности слаборослой плодоносящей яблони подвижными формами основных минеральных элементов, в том числе, на фоне применения органоминеральных бесхлорных удобрений пролонгированного действия в полевых

UDC 663.252:631.81:634.1

**ELECTROPHORESIS METHOD
OF RESEARCH OF FEEDING MODE
OF FRUIT CULTURES**

Sergeeva Natalya
Cand. Agr. Sci.
Senior Researcher Associate of Laboratory
of Agrichemical and Melioration

Yakuba Yuriy
Cand. Tech. Sci., Docent
Head of Center of Collective Using
Instrument and Analytical

*State Scientific Organization North
Caucasian Regional Research Institute
of Horticulture and Viticulture of FASO
of Russia, Krasnodar, Russia*

The method of diagnostics of the cations maintenance in the tissues and bodies of fruit crops with use of system of a capillary electrophoresis is described in the article. The stated sequence of analysis stages leans methodically on known physiological and agrichemical methods of an express assessment of functional plant's condition. The modes of sample's preparation and the analysis of extracts are based on original techniques of an electrophoresis method of research of vegetative plant's bodies. Optimum terms of samples selection and carrying out of analysis are indicated. The terms of samples selection are dated for vegetation phases. The method allows to estimate the level of activity of exchange processes of an apple-tree with fertilizers use. The results of diagnose of ensuring of weak growing fructifying apple-tree by mobile forms of the basic mineral elements, including application of the organic and mineral non-chlorine fertilizers of the prolonged action are given at the field stationary experiments. It is established that with application

стационарных опытах. Установлено, что на фоне применения органоминеральных подкормок содержание подвижных форм калия на 2,3-22,5% выше, чем на контроле (без удобрений). Увеличение содержания минеральных форм кальция на 48,2% при внесении удобрений отмечено в июне, в период летнего спада активности ростовых процессов у яблони. Подкормки органоминеральными удобрениями способствовали увеличению содержания подвижных форм магния в листьях яблони на различных фазах развития от 5,7 до 22,5%.

Ключевые слова: ПЛОДОВЫЕ КУЛЬТУРЫ, ДИАГНОСТИКА РЕЖИМА ПИТАНИЯ, КАПИЛЛЯРНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ

of the organic and mineral feeding the maintenance of mobile forms of potassium is on 2,3-22,5% higher, than on control (without fertilizers). The increase of maintenance of calcium mineral forms on 48,2% at application of fertilizers is noted in June, during period of summer recession of activity of apple-tree's growth processes. The feeding by organic and mineral fertilizers promoted the increase in the maintenance of mobile forms of magnesium from 5,7 to 22,5% in the apple-tree leaves on various phases of plant's development.

Key words: FRUIT CULTURES, DIAGNOSTICS OF FEEDING MODE, CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Введение. Разработки отечественных учёных в области экспресс-методов диагностирования режима питания сельскохозяйственных растений (Магницкий, Усков, Церлинг, Плешков и др.) известны с 50-х годов прошлого столетия. Вместе с тем, метод тканевой диагностики не получил должного развития при изучении физиологии питания многолетних растений из-за отсутствия приборной базы.

Современное лабораторное приборное оборудование позволяет совершенствовать и развивать количественные экспресс-методы исследования динамики содержания подвижных форм макро- и микроэлементов, органических соединений в органах и тканях плодовых растений.

Одним из интенсивно развивающихся как у нас в стране, так и за рубежом методов экспресс-оценки состояния растений является метод капиллярного электрофореза, который основан на разделении компонентов сложных смесей [1, 2].

Современные методы экспресс-оценки и количественного определения содержания элементов в органах растений и диагностирования их со-

стояния являются основой для разработки интегрированной системы применения специальных удобрений.

Цель исследования – разработка экспресс-метода определения содержания основных минеральных элементов в тканях и органах плодовых растений для диагностики режима питания с использованием капиллярного электрофореза.

Объекты и методы исследования. Анализируемый растительный материал был получен нами в 2007-2010 гг. в многолетнем полевом стационарном опыте с удобрением яблони, проводимом в соответствии с общепринятыми методиками исследований [1].

Рассматривалась возможность диагностирования динамики содержания в листьях слаборослой плодоносящей яблони основных минеральных элементов – К, Са, Mg – с помощью экспресс-метода капиллярного электрофореза с использованием оборудования СВЧ-минерализатора «Минотавр-1», «МС-6» с программным обеспечением; системы капиллярного электрофореза «Капель-103Р».

Оптимальные сроки проведения анализа:

- фаза «обособление бутонов» (апрель),
- фаза развития плода «грецкий орех» и т.д. (май),
- период летнего спада активности ростовых процессов (июнь),
- период роста плодов (июль),
- формирование генеративного потенциала яблони (июль-август, II-III этапы органогенеза),
- созревание плодов (август),
- период съёмной зрелости плодов (сентябрь).

Обсуждение результатов. За период исследований установлено, что наиболее высокое содержание подвижных форм калия, кальция и маг-

ния в листьях (апрель – листья розеток) наблюдалось на ранних этапах сезонного развития растений яблони – перед началом цветения.

Динамика содержания минеральных элементов в листьях яблони в процессе вегетации растений была различной. Варьирование содержания подвижных форм калия в листьях ростовых побегов было наиболее значительным (рис. 1).

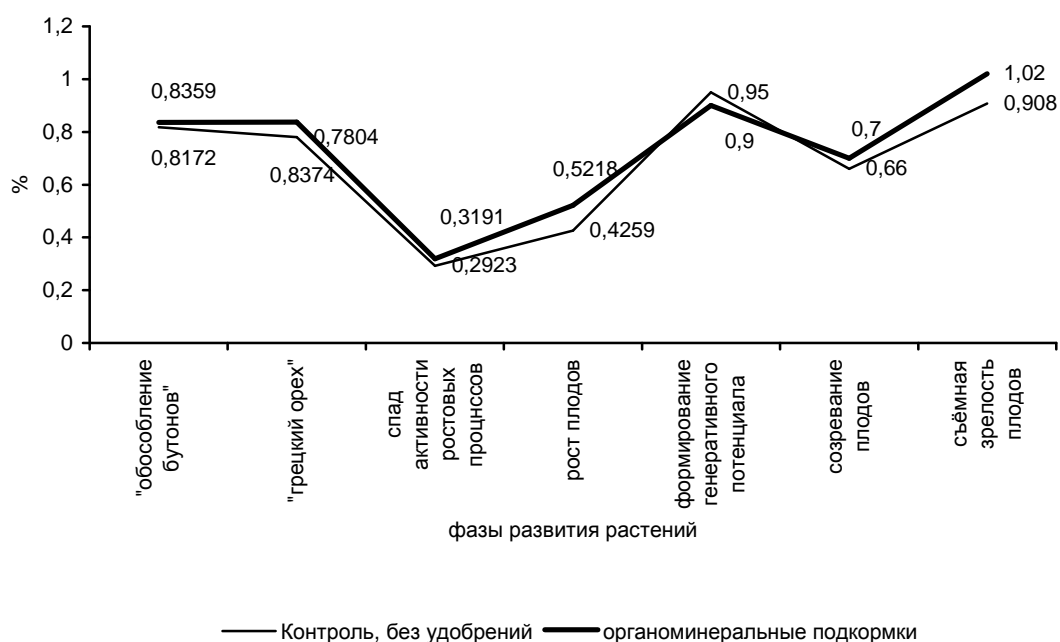


Рис. 1. Динамика содержания подвижного калия в листьях яблони

Определены три основных периода максимального содержания калия в листьях: «обособление бутонов» – фаза развития плода «грецкий орех»; период формирования генеративного потенциала яблони (I-III этапы органогенеза¹); период съёмной зрелости плодов.

Установлено влияние удобрений на содержание калия в листьях растений яблони: на фоне применения органоминеральных подкормок содержание подвижных форм калия было на 2,3-22,5% выше, чем на контрольном варианте (без удобрений), в зависимости от фазы развития.

¹ Этапы органогенеза квалифицировали по состоянию развития большинства почек

Для более полной характеристики питательного режима яблони и активности обменных процессов определяли соотношение подвижных и валовых форм элементов в индикаторных органах растений, которые анализировались нами в соответствии с общепринятыми методиками:

- «Методика подготовки растительных проб к анализу» (Гинзбург, Щеглова, Вульфус, 1963);
- «Методика определения кальция и магния в растениях»;
- «Методика определения азота, фосфора и калия из одной навески растительного материала» (Крищенко, 1983).

В результате проведенных анализов выявлено, что на фоне применения удобрений увеличение доли подвижного калия в листьях растений составило 4,8-14,8%, а превышение его содержания над общим количеством наблюдается в фазу «обособление бутонов» на контрольном варианте и в период «обособление бутонов» – плод «грецкий орех» в варианте с применением органоминеральных удобрений.

На содержание в листьях подвижного кальция применяемые удобрения не оказали значительного влияния, что вероятно связано с генетическими особенностями сорта, обуславливающими стабильный уровень его содержания в листьях и плодах яблони.

Увеличение содержания в листьях минеральных форм кальция на 48,2% при внесении органоминеральных удобрений установлено в июне, в период летнего спада активности ростовых процессов у растений яблони.

Процент содержания минеральных форм кальция по отношению к валовому количеству в листьях яблони равномерно снижался в течение вегетации с 41-44% в фазу «обособление бутонов» до 8-11% в летний период роста плодов и до 5-8 % к периоду их съёмной зрелости.

В наших опытах применение органоминеральных подкормок способствовало увеличению содержания от 5,7 до 22,5% подвижных форм магния в листьях плодоносящей яблони на различных фазах развития растений.

Соотношение подвижных и валовых форм изменялись от 40-56% к 60-44% в ранневесенний период до 13-20 % к 87-80 % в июне.

В период перехода от вегетативного развития почки к генеративному (III этап органогенеза яблони) соотношение содержания минеральных форм магния к валовым составило 23-33% к 77-67% и к периоду съёмной зрелости плодов снизилось до 10-11% к 90-89%.

Анализ содержания валовых и обменных форм минеральных элементов в плодах яблони в период съёмной зрелости позволил установить, что различия в содержании валовых форм элементов в большей степени зависят от сорта, в то время как содержание обменных форм минеральных элементов варьирует в зависимости от дополнительного минерального питания растений.

В варианте с применением органоминеральных подкормок зафиксировано увеличение содержания элементов в листьях яблони:

- обменных форм калия на 6,5 (Корей), 12 (Прикубанское) и 24% (Айдаред);
- кальция – на 9 (Айдаред), 28 (Корей) и 119% (Прикубанское);
- магния – на 12 (Корей), 17 (Прикубанское) и 20% (Айдаред).

Проведение тканевой диагностики на основе определения подвижных форм щелочных и щёлочно-земельных металлов в органах растения представляет собой современный оперативный метод контроля состояния плодовых культур [2-4].

Используемый в работе для определения содержания в листьях яблони К, Са М метод капиллярного электрофореза основан на разделении заряженных компонентов сложных смесей, что позволяет анализировать ионные и нейтральные компоненты в растительном материале с высокой экспрессностью [5, 6].

Отбор растительных образцов садах осуществляют в соответствии с общепринятой методикой [2]: у плодовых деревьев берут по 1 листу

(в ранневесенний период – листья розеток) из средней части побегов продолжения, равномерно размещённых по периферии кроны. В пробу отбирается не менее 100 листьев с двух-трёх повторностей опыта.

Для изучения динамики содержания элементов питания в листьях исследуемых плодовых культур в течение вегетационного периода анализ растительного материала проводят несколько раз, приурочивая отбор проб к фазам вегетации растений.

Для получения из свежего растительного материала (листья) дозы экстрактов подвижных форм неорганических соединений используют СВЧ-минерализаторы «Минотавр-1», «МС-6» с программным обеспечением; для дальнейшего анализа физиологически активных компонентов – систему капиллярного электрофореза «Капель-103Р».

СВЧ-экстракцию очищенного от внешних загрязнений растительного материала проводят следующим образом: из средней пробы образца делается высечка (нарезка) в количестве 1 г, которая помещается в контейнер СВЧ-минерализатора, добавляется 25 мл 10%-ного водного раствора этилового спирта и в режиме «разложение без давления» проводится экстракция в течение 10 минут.

Далее контейнер извлекают из минерализатора и охлаждают. Полученный экстракт количественно, используя 10%-ный водный раствор спирта, переносят в мерную колбу на 25 мл.

Анализ полученного экстракта осуществляют с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель-103Р». Экстракт дозируют в прибор, анализ проводится при следующих условиях: напряжение – плюс 17 кВ, ток – мкА, время анализа – 12 мин., ввод пробы – 30 мБар 5 сек.

Используя электрофореграмму, зарегистрированную в приведенных выше условиях анализа, при помощи программного обеспечения к прибору рассчитывают массовую концентрацию компонентов по установленным градуировочным характеристикам (рис. 2).

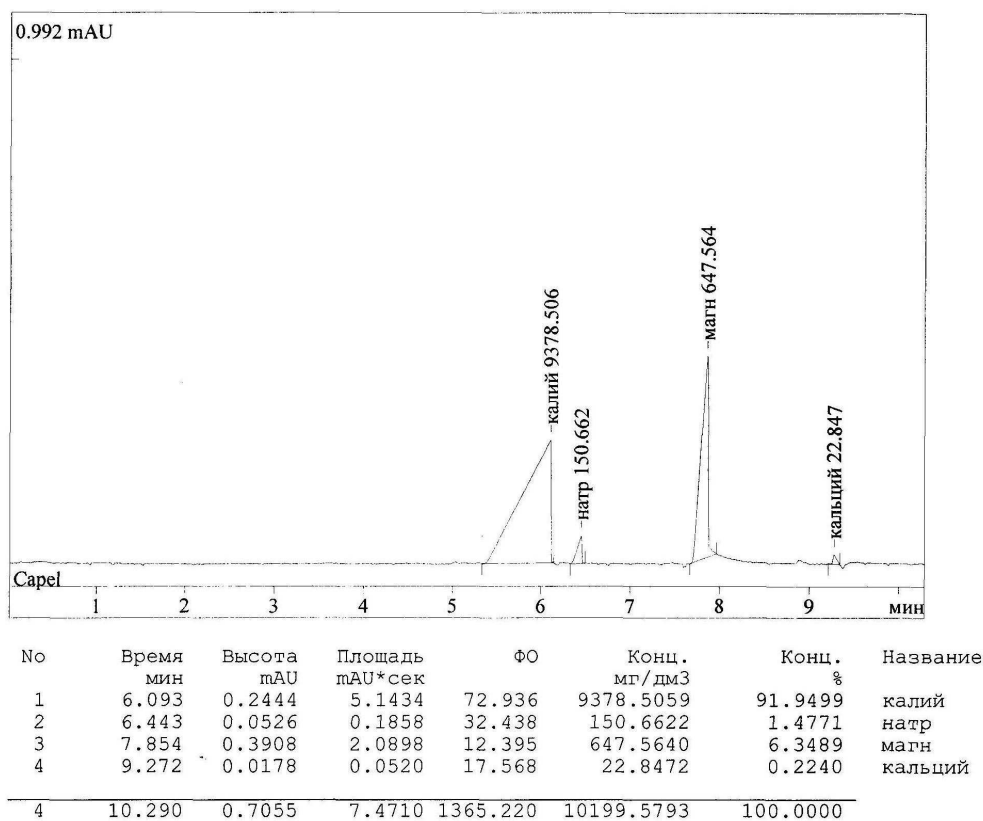


Рис. 2. Электрофореграмма анализируемого растительного образца

Выводы. Приведены результаты диагностирования обеспеченности слаборослой плодоносящей яблони подвижными формами основных минеральных элементов, в том числе, на фоне применения органоминеральных удобрений пролонгированного действия.

Результаты анализа СВЧ-экстрактов подвижных форм основных минеральных элементов экспресс-методом капиллярного электрофореза позволяют диагностировать динамику содержания питательных элементов и их соотношений в листьях растений.

Полученные в процесс се исследований данные свидетельствуют о возможности экспресс-оценки сезонного режима питания плодовых растений и активности обменных процессов, в том числе при применении органоминеральных удобрений.

Литература

1. Методические указания по проведению исследований в длительных опытах с удобрениями / Под ред. В.Д. Панникова. – Ч. III. – М.: ВАСХНИЛ, 1976. – 135 с.
2. Гинзбург, К.Е. Ускоренный метод сжигания почв и растений / К.Е. Гинзбург, Г.М. Щеглова, Е.В. Вульфийус // Почвоведение, 1963 – № 5. – С. 89-96.
3. Крищенко, В.П. Методы оценки качества растительной продукции: Учеб. пособие. – М.: Колос, 1983. – 192 с.
4. Комарова, Н.В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ» / Н.В. Комарова, Я.С. Каменцев. – СПб.: ООО «Веда», 2006. – 212 с.
5. Якуба, Ю.Ф. Применение СВЧ-экстракции и высокоэффективного капиллярного электрофореза для анализа вегетативных органов растений / Ю.Ф. Якуба // Современное приборное обеспечение и методы анализа почв, кормов, растений и сельскохозяйственного сырья: Сб. матер. II Междунар. конф. (ВИУА). – М., 2004. – С. 71-74.
6. Hinsman P., Arce L., Rios A., Valcarcel M. Determination of pesticide in water by automatic on-line solid-phase extraction - capillary electrophoresis// J. Chromatography A, 866,(2000), 137-146.A.
7. Сергеева Н.Н., Захарова М.В., Якуба Ю.Ф. Использование метода капиллярного электрофореза для диагностики питания плодовых культур / Н.Н. Сергеева, М.В. Захарова, Ю.Ф. Якуба // Доклады РАСХН. – 2010. – №3. – С. 19-21.
8. Сергеева, Н.Н. Влияние условий питания на содержание аминокислот в листьях яблони / Н.Н. Сергеева // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. – № 13(6). – С. 76-85. Режим доступа: <http://www.journal.kubansad.ru/pdf/13/06/09.pdf>.

References

1. Metodicheskie ukazaniya po provedeniyu issledovaniy v dlitel'nyh opytah s udobreniyami / Pod red. V.D. Pannikova. – Ch. III. – M.:VASHNIL, 1976. – 135 s.
2. Komarova, N.V. Prakticheskoe rukovodstvo po ispol'zovaniyu sistem kapil'lyarnogo elektroforeza «KAPEL'»/N.V. Komarova, Ya.S. Kamentsev.– SPb.: ООО «Ve-da», 2006.– 212 s.
3. Yakuba, Yu.F. Primenenie SVCh-ekstraksii i vysokoeffektivnogo kapillyar-nogo elektroforeza dlya analiza vegetativnyh organov rasteniy / Yu.F. Yakuba // Sovremennoe pribornoe obespechenie i metody analiza pochv, kormov, rasteniy i sel'skoho-zyaystvennogo syr'ya: Sb. mater. II Mezhdunar. konf. (VIUA). – M., 2004. – S. 71-74.
4. Hinsman P., Arce L., Rios A., Valcarcel M. Determination of pesticide in water by automatic on-line solid-phase extraction – capillary electrophoresis// J. Chromatography A, 866,(2000), 137-146.A.
5. Sergeeva N.N., Zaharova M.V., Yakuba Yu.F. Ispol'zovanie metoda kapillyar-nogo elektroforeza dlya diagnostiki pitaniya plodovyh kul'tur / N.N. Sergeeva, M.V. Zaharova, Yu.F. Yakuba // Doklady RASHN. – 2010. – №3. – S. 19-21.
6. Sergeeva, N.N. Vliyanie usloviy pitaniya na sodержanie aminokislot v li-st'yah yablони [Elektronnyj resurs] / N.N. Sergeeva, N.I. Nen'ko, Yu.F. Yakuba // Plo-dovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii [sayt]. [2012]. URL: <http://journal.kubansad.ru/archive/13/> (№13 (7). – 9 s.
7. Sergeeva N.N., Zaharova M.V., Yakuba Yu.F. Ispol'zovanie metoda kapillyar-nogo elektroforeza dlya diagnostiki pitaniya plodovyh kul'tur / N.N. Sergeeva, M.V. Zaharova, Yu.F. Yakuba // Doklady RASHN. – 2010. – №3. – S. 19-21.
8. Sergeeva, N.N. Vliyanie usloviy pitaniya na sodержanie aminokislot v li-st'yah yablони / N.N. Sergeeva // Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii [Elek-tronnyj resurs]. – Краснодар: SKZNIISiV, 2012. – № 13(6). – S. 76-85. Rezhim dostu-pa: <http://www.journal.kubansad.ru/pdf/13/06/09.pdf>.