

УДК 631.461:634

DOI: 10.18522/2308-9709-2025-51-3

Влияние гуминового препарата на цитоморфометрические показатели ячменя в условиях снижения доступности фосфора

Хатламаджиян А.А., Бесчетников В.В., Безуглова О.С.

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

В статье представлены результаты исследования влияния гуминового препарата ВЮ-Дон на цитоморфометрические показатели ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.) в условиях стресса, вызванного дефицитом фосфора в питательном растворе. Цель работы — изучение возможности использовать гуминовый препарат для нейтрализации стресса фосфорного голодания. В ходе вегетационного опыта гидропонным методом были проанализированы четыре варианта: 1) контроль1 (питательная смесь Прянишникова – ПС), 2) контроль1 + ВЮ-Дон (5 мл/л), 3) Контроль2 (ПС, в которой двузамещенный фосфат кальция заменили трехзамещенным фосфатом кальция), 4) К2 + ВЮ-Дон. Исследовали клеточные структуры корневой системы и листовой пластины ячменя. Результаты микроскопического анализа корней продемонстрировали, что применение ВЮ-Дон на фоне фосфорного дефицита способствовало увеличению площади поперечного сечения корня в 6.7 раза по сравнению с вариантом без обработки. В листовых пластинах препарат снижает негативное влияние дефицита фосфора, уменьшая толщину листа на 32,9% и увеличивая плотность клеток хлоренхимы на 94,7%. Полученные данные подтверждают, что гуминовые вещества улучшают фосфорное питание растений, способствуя переводу фосфора в более доступную для растений форму, тем самым стимулируя развитие корневой системы и оптимизируя структуру фотосинтезирующих тканей.

Ключевые слова: гуминовый препарат, ячмень, фосфор, цитоморфометрия.

Eng. Influence of humic preparation on barley cytomorphometry under phosphorus deficiency conditions

Khatlamadzhiian A.A., Beschetnikov V.V., Bezuglova O.S.

Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

The article presents the results of a study of the effect of the BIO-Don humic preparation on cytomorphometric parameters of common barley (*Hordeum vulgare* L.) under stress caused by phosphorus deficiency. The purpose of the work is to study the effect of BIO—Don on the structure of the root system and the leaf plate of barley. A hydroponic experiment was conducted with four treatments: 1) Control-1 (Pryanishnikov's nutrient mixture), 2) Control-1 + BIO-Don (5 ml/l), 3) Control-2 ((Pryanishnikov's nutrient mixture replaced by tricalcium phosphate), and 4)

Control-2 + BIO-Don. Cellular structures of the root system and leaf blades of barley were examined. The results of microscopic root analysis demonstrated that the application of BIO-Don under phosphorus deficiency conditions led to a 6.7-fold increase in root cross-sectional area compared to untreated control. In leaf blades, the preparation mitigated the negative effects of phosphorus deficiency by reducing leaf thickness by 32.9% while increasing chlorenchyma cell density by 94.7%. The obtained data confirm that humic substances enhance plant phosphorus nutrition by facilitating the conversion of phosphorus into more plant-available forms, thereby stimulating root system development and optimizing the structure of photosynthetic tissues.

Keywords: humic preparation, barley, phosphorus, cytometry

Введение. Гуминовые вещества представляют собой органические соединения с высокой молекулярной массой и разнообразным составом, которые образуются в результате гумификации остатков растений и животных в почвах, торфяниках и углях. Эти вещества обладают кислотными свойствами и сложной молекулярной структурой, а также играют важную роль в процессе образования почвы и повышении её плодородия (Орлов, 1990).

Многочисленные исследования раскрывают механизмы их положительного влияния на растения. В частности, доказано, что гуминовые вещества не только стимулируют рост и развитие растений на генном уровне (Canellas et al., 2020), но и повышают их устойчивость к стрессовым факторам, включая негативные последствия от дефицита фосфора (Шеуджен и др., 2015). При этом, несмотря на подтверждённую эффективность гуминовых препаратов в улучшении качества почвы и увеличении урожайности (Безуглова, 2009), некоторые аспекты их действия, особенно при листовом внесении, требуют дальнейшего изучения.

Одним из ключевых свойств гуминовых веществ является их способность мобилизовать фосфор, переводя его в доступные для растений формы и повышая содержание подвижных фосфатов в почвенном растворе (Полиенко, 2016; Дубинина, Безуглова, 2022). Современные исследования (Olivares et al., 2021; Garcia et al., 2022) углубляют понимание молекулярных механизмов этого процесса в растениях, включая активацию транспортных систем фосфора и фитогормонов (Shah et al., 2023). Имеются работы, показывающие роль микроорганизмов микоризной зоны в переводе фосфора в подвижную форму (Котелев, Мехтиева, 1961; Котелев, 1964; Безуглова и др., 2019).

Цель данного эксперимента – изучение влияния гуминового препарата на цитоморфометрические показатели ячменя обыкновенного в условиях стресса, вызванного снижением доступности фосфора.

Материалы и методы

Был заложен вегетационный опыт гидропонным методом с применением универсальной смеси Прянишникова (Гончарук, 1976). В качестве тест-объектов использованы пророщенные семена ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.) сорта «Ратник» в количестве 6 шт/контейнер. Перед высевом семян в питательную среду вносили гуминовый препарат ВЮ-Дон в дозе 5 мл/л, в соответствии с рекомендациями производителя. Имитация фосфорного дефицита была произведена заменой в питательной среде двузамещённого ортофосфата натрия (Na_2HPO_4) на свежеприготовленный мелкодисперсный ортофосфат кальция ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Опыт проводили в 3-кратной повторности. Схема опыта включала 4 варианта:

1. Контроль1 – питательная смесь Прянишникова (К1)
2. К1 + ВЮ-Дон
3. Контроль с труднорастворимым фосфором (К2)
4. К2 + ВЮ-Дон.

По завершении испытаний (14 суток) были отобраны фрагменты корней из области всасывания и листовых пластин ячменя для проведения микроскопического анализа. Гистохимическая фиксация для защиты от постмортальных изменений проводилась растворами глутарового альдегида (2,5%) в натрий-фосфатном буфере (pH=7,3). Для заливки в блоки использовалась эпоксидная смола Эпон-812. Подготовку полутонких срезов (300–700 нм) осуществляли на ультрамикротоме «EM UC6» фирмы Leica (Германия), в качестве светооптического микроскопа использовали микроскоп «Микмед-6» производства фирмы ЛОМО (Россия). Окрашивание срезов производилось водным раствором метиленового синего и толуидинового синего. Съёмка фотографий осуществлялась при увеличении 400 крат.

Результаты и обсуждение

Корневая система растения играет ключевую роль в защите от негативных факторов, источником которых является почва. Негативными

факторами может выступать как недостаток в почвенной среде микро- либо макроэлемента, так и их избыток. Одним из часто встречающихся признаков химического воздействия на растение является изменение структуры корней и увеличение их плотности (Иванов, 2020). Образец корня ячменя, отобранный из варианта с имитацией недостатка фосфора, обладает существенными деформациями в области эпиблемы и кортекса (рис. 1).

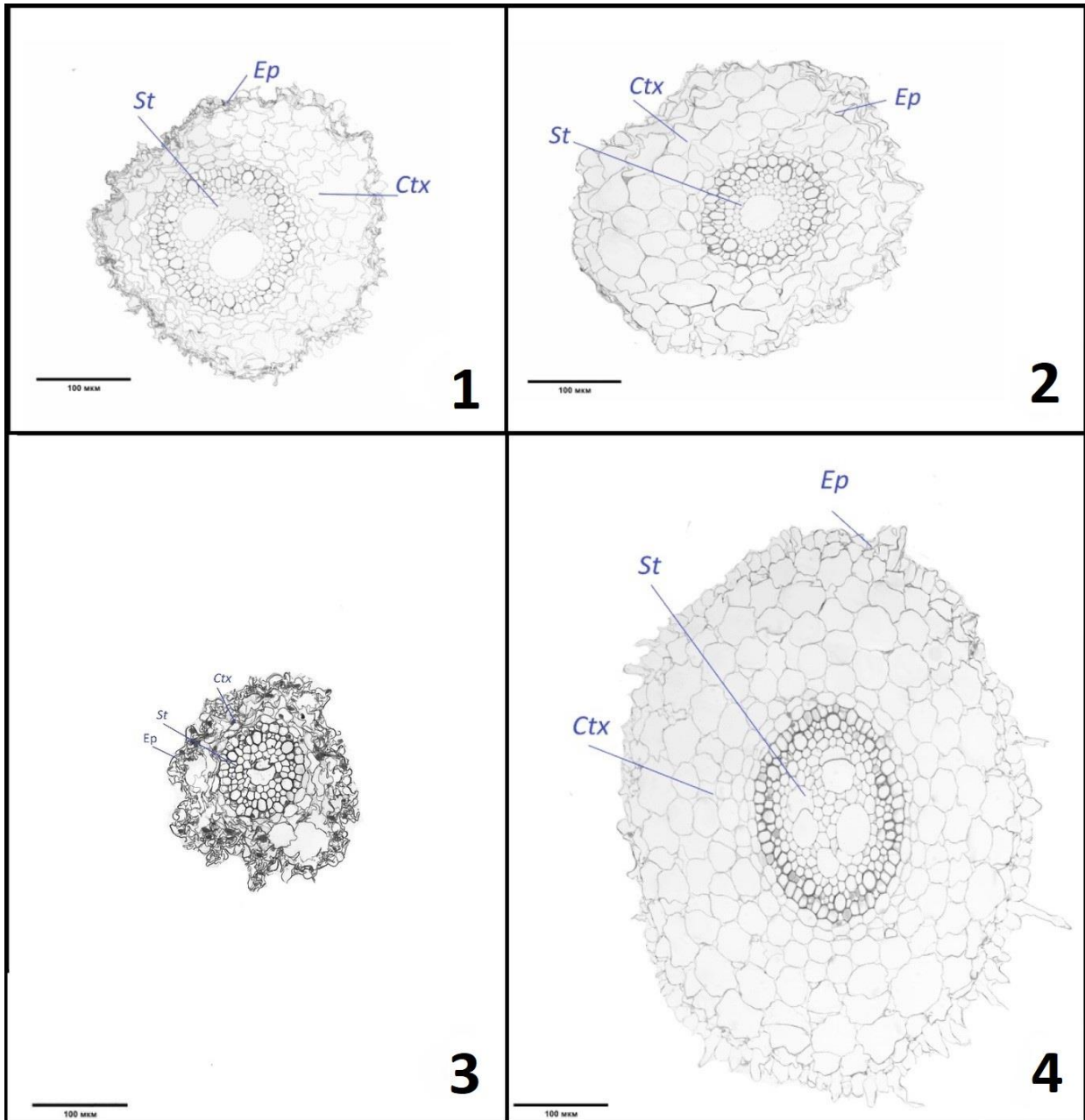


Рисунок 1. Поперечные срезы корня ярового ячменя. **Ep** – эпиблема; **Ctx** – кора (кортекс); **St** – центральный цилиндр (стела). Масштаб – 100 мкм. Варианты: 1 – K1; 2 – K1 + ВЮ-Дон; 3 – K2; 4 – K2 + Био Дон.

В условиях дефицита фосфора (вариант 3 – К2) наблюдалось снижение площади сечения корня на 56,8%, уменьшение площади центрального цилиндра на 64,0% и площади коры на 54,0%, а также резкое уменьшение среднего размера клеток коры на 77,3% (табл.1). Такие изменения могут быть связаны с угнетением клеточного деления и растяжения из-за энергетического дефицита и нарушения синтеза структурных компонентов клеток, обусловленных недостатком фосфора.

Таблица 1 – Цитоморфометрические показатели корня ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare L.*) сорта «Ратник»

№	Вариант	Площадь, мкм ²			Средний размер клетки коры	
		сечения корня	ЦЦ*	коры	Абсол. знач., мкм ²	% от контроля
1	К1 (легкодоступный фосфор)	72117,1	20572,6	51544,5	578,9±12,7	100
2	К1 + ВЮ-Дон	89794,9	12880,7	76914,2	891,3 ± 6,0	154,0
3	К2 с труднорастворимым фосфором	31123,6	7405,1	23718,5	131,6 ± 9,2	22,7
4	К2 + ВЮ-Дон.	209458,8	28342,4	181116,4	678,2 ± 10,5	117,1

* центральный цилиндр

При совместном воздействии труднорастворимого фосфора и препарата ВЮ-Дон (вариант 4) площадь поперечного сечения корня увеличилась в 7 раз по сравнению с вариантом, содержащим труднорастворимый фосфор. Также наблюдалось увеличение площади центрального цилиндра и коры (более чем в 6 раз) при обработке препаратом в сочетании с труднорастворимым фосфатом. Средний размер клеток коры при этом возрос в 5 раз. Эти изменения могут быть связаны со стимуляцией роста корня за счёт улучшения доступности фосфора и усиления метаболической активности клеток, что так же обусловлено увеличением проницаемости клеток под влиянием гуминовой кислоты. Последний факт был экспериментально доказан группой ученых под руководством Л.А. Христовой (цит. по; Безуглова, 2009).

Фосфор, будучи жизненно важным макроэлементом, играет ключевую роль в образовании генеративных органов растений. Поэтому важно изучить, как его недостаток в питательном субстрате воздействует на внутреннее строение листьев.

Результаты микроскопического анализа листовых пластин также выявили существенные изменения параметров хлоренхимы в зависимости от условий фосфорного питания и применения ВЮ-Дон (рис. 2).

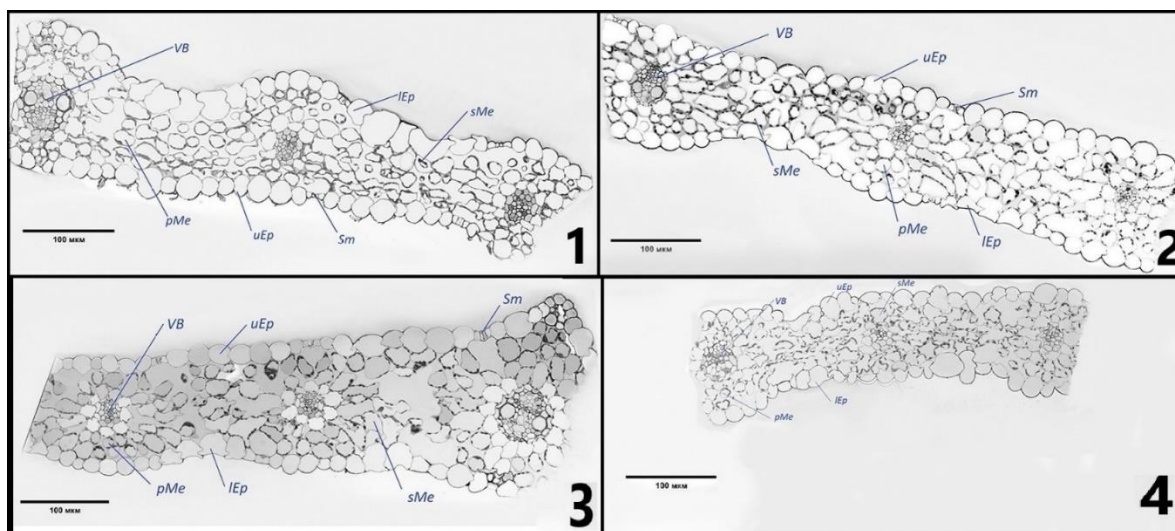


Рисунок 2. Поперечные срезы листовой пластины ярового ячменя. **uEp** – верхний эпидермис; **lEp** – нижний эпидермис; **Sm** – устьице (стома); **pMe** – палисадный мезофил; **sMe** – губчатый мезофил; **VB** – проводящий пучок. Масштабный отрезок – 100 мкм.
Варианты: 1 – K1; 2 – K1 + ВЮ-Дон; 3 – K2; 4 – K2 + ВЮ-Дон.

В контрольном варианте (легкодоступный фосфор) средний размер клеток хлоренхимы составлял 123,3 мкм² при плотности 3160,5 клеток/мм², содержание пластид – 5,7 на клетку, толщина листа – 129,7 мкм (табл.2). Применение гуминового препарата ВЮ-Дон в контрольных условиях вызвало увеличение размера клеток хлоренхимы в половину при одновременном снижении их плотности на 11% (2818,9 клеток/мм²).

Таблица 2 – Цитоморфометрические показатели листовой пластины ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.) сорта «Ратник»

№	Вариант	Средний размер клетки хлоренхимы мкм ²	Количество клеток хлоренхимы на мм ²	Количество пластид в клетке хлоренхимы	Средняя толщина листовой пластины, мкм
1	К1 (легкодоступный фосфор)	123,3 ± 5.2	3160,5	5,7	129,7
2	К1 + ВЮ-Дон	193,83 ± 12.5	2818,9	6,0	111,9
3	К2 с труднорастворимым фосфором	222,3 ± 7.3	2180,1	6,6	145,0
4	К2 + ВЮ-Дон.	132,0 ± 4.9	4244,9	5,9	97,3

В условиях дефицита фосфора (К2) наблюдалось увеличение размера клеток хлоренхимы на 80,3% при снижении их плотности 1,5 раза. Число пластид в клетках было наибольшим (6,6), а толщина листа увеличилась на 11,8%. Увеличение размера клеток хлоренхимы при дефиците фосфора может быть связано с компенсаторным растяжением клеток на фоне снижения их деления, а рост числа пластид — с адаптацией к усиленному фотосинтетическому стрессу.

Совместное действие дефицита фосфора и гуминового препарата ВЮ-Дон привело к уменьшению размера клеток хлоренхимы на 40,6% по сравнению с вариантом К2 (132,0 мкм²) при резком увеличении их плотности на 94,7%. Количество пластид снизилось до 5,9 на клетку, а толщина листовой пластины уменьшилась на 32,9%.

Заключение

Таким образом, влияние фосфора на состояние растений зависит от его доступности. Введение в среду гуминового препарата улучшает состояние листовой поверхности при недостатке фосфора в среде. Метод световой микроскопии позволил обнаружить, что гуминовый препарат ВЮ-Дон способствует увеличению размера клеток фотосинтезирующей ткани и увеличению числа хлоропластов, а также способствует увеличению числа клеток хлоренхимы. Гуминовый препарат ВЮ-Дон стимулирует рост клеток коры, что также способствует увеличению всасывающей силы корня.

Эти данные открывают новые перспективы для разработки эффективных агротехнологий на основе гуминовых препаратов.

Исследование влияния гуминовых препаратов на растительные организмы представляет большой научный и практический интерес, поскольку их использование способно существенно повысить продуктивность и стрессоустойчивость агрокультур.

Список литературы

1. Безуглова О. С. Гуминовые вещества в биосфере. Учебное пособие. Ростов-на-Дону, 2009. – 120 с.
2. Безуглова О.С., Полиенко Е.А., Горовцов А.В., Лыхман В.А. Влияние гуминовых препаратов на почвы и растения. Ростов-на-Дону – Таганрог: Изд-во Южного федерального университета, 2019. 154 с.
3. Гончарук Е И., Соколов М С., Спасов А. С., Шостак Л. Б. Применение песчаных культур при нормировании химических веществ в почве // Гигиена и санитария. 1976. №4.
4. Дубинина М.Н., Безуглова О.С. Влияние гуминового препарата на фракционно-групповой состав фосфатов в черноземе обыкновенном карбонатном // Известия ВУЗОВ. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2022. № 1. – С. 38–48. DOI: 10.18522/1026-2237-2022-1-38-48.
5. Иванов В.Б. и др. Адаптация корневой системы растений к дефициту фосфора: цитоморфометрический анализ // Физиология растений. 2020. Т. 67, № 3. С. 198–210. DOI: 10.1134/S0015330320030057.
6. Котелев В.В. Роль микроорганизмов в разложении органических фосфатов и передвижении фосфора в почве: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: Институт микробиологии Академии наук СССР, 1964. 26 с.
7. Котелев В.В., Мехтиева Е.А. Зависимость между фосфатазной активностью микрофлоры и содержанием подвижного фосфора в почве. Известия Молдавского фил. АН СССР, 1961. № 7 (85). С. 41–47.
8. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. — М.: Изд-во МГУ, 1990. 325 с.
9. Полиенко, Е. А. Экологическая оценка влияния гуминовых препаратов на состояние почв и растений: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук: специальность 03.02.08 «Экология». Ростов-на-Дону: ЮФУ, 2016. 24 с.
10. Шеуджен А. Х., Бондарева Т. Н., Штуц Р. В., Есипенко С. В. Агрохимия регуляторов роста гуминовой природы в рисоводстве // Научный журнал КубГАУ. 2015. №106. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/agrohimiya-regulyatorov-rosta-guminovoy-prirody-v-risovodstve> (дата обращения: 25.03.2025).

11. Canellas L. P., Olivares F. L., Aguiar N. O. et al. Humic substances enhance plant growth by improving nutrient uptake and activating stress-responsive genes [Electronic resource] // *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. P. 426. DOI: 10.3389/fpls.2020.00426.
12. Garcia A.C. et al. Structure-activity relationship of humic substances in promoting plant growth and nutrient uptake [Electronic resource] // *Frontiers in Soil Science*. 2022. Vol. 2. P. 45. DOI: 10.3389/fsoil.2022.803706.
13. Olivares F.L. et al. Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes // *Scientia Horticulturae*. 2021. Vol. 282. P. 110037. DOI: 10.1016/j.scienta.2021.110037.
14. Shah Z. H., Rehman H. M., Akhtar T. et al. Humic substances: Determining potential molecular regulatory processes in plants [Electronic resource] // *Frontiers in Plant Science*. 2023. Vol. 14. Art. 1183319. DOI: 10.3389/fpls.2023.1183319.

References

1. Bezuglova, O. S. Humic substances in the biosphere. Textbook. Rostov-on-Don, 2009. – 120 p.
2. Bezuglova O.S., Polienko E.A., Gorovtsov A.V., Lykhman V.A. The Influence of Humic Preparations on Soils and Plants. Rostov-on-Don – Taganrog: Southern Federal University Press, 2019. 154 p.
3. Goncharuk, E. I., Sokolov, M. S., Spasov, A. S., Shostak, L. B. The use of sand cultures in the regulation of chemical substances in soil // *Hygiene and Sanitation*. 1976. No. 4.
4. Dubinina M.N., Bezuglova O.S. The Influence of a Humic Preparation on the Fractional-Group Composition of Phosphates in Carbonate Chernozem. *Bulletin of Higher Educational Institutions. North Caucasus Region. Natural Sciences*, 2022, no. 1, pp. 38–48. DOI: 10.18522/1026-2237-2022-1-38-48.
5. Ivanov, V. B., et al. Adaptation of Plant Root System to Phosphorus Deficiency: Cytomorphometric Analysis. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2020, vol. 67, no. 3, pp. 198-210. DOI: 10.1134/S0015330320030057.
6. Kotelev V.V. The Role of Microorganisms in the Decomposition of Organic Phosphates and the Movement of Phosphorus in Soil: Abstract of Doctoral (Biol. Sci.) Dissertation. Moscow: Institute of Microbiology, USSR Academy of Sciences, 1964. 26 p.
7. Kotelev V.V., Mekhtiyeva E.A. The Relationship Between the Phosphatase Activity of Microflora and the Content of Mobile Phosphorus in Soil. *Proceedings of the Moldavian Branch of the USSR Academy of Sciences*, 1961, no. 7 (85), pp. 41–47.
8. Orlov, D. S. Humic Acids of Soils and the General Theory of Humification. Moscow: Moscow State University Press, 1990. 325 p. (In Russian).

9. Polienko, E. A. Ecological Assessment of the Impact of Humic Preparations on the Condition of Soils and Plants: Abstract of the Dissertation for the Degree of Candidate of Biological Sciences: Specialty 03.02.08 “Ecology”. Moscow, 2016. 24 p. (In Russian).
10. Sheudzhen, A. Kh., Bondareva, T. N., Shtuts, R. V., Yesipenko, S. V. Agrochemistry of Growth Regulators of Humic Nature in Rice Cultivation. Scientific Journal of KubSAU, 2015, no. 106. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/agrohimiya-regulyatorov-rosta-guminovoy-prirody-v-ri-sovodstve> (accessed: 25.03.2025). (In Russian).
11. Canellas L. P., Olivares F. L., Aguiar N. O. et al. Humic substances enhance plant growth by improving nutrient uptake and activating stress-responsive genes [Electronic resource] // *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. P. 426. DOI: 10.3389/fpls.2020.00426.
12. Garcia A.C. et al. Structure-activity relationship of humic substances in promoting plant growth and nutrient uptake [Electronic resource] // *Frontiers in Soil Science*. 2022. Vol. 2. P. 45. DOI: 10.3389/fsoil.2022.803706.
13. Olivares F.L. et al. Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes // *Scientia Horticulturae*. 2021. Vol. 282. P. 110037. DOI: 10.1016/j.scienta.2021.110037.
14. Shah Z. H., Rehman H. M., Akhtar T. et al. Humic substances: Determining potential molecular regulatory processes in plants [Electronic resource] // *Frontiers in Plant Science*. 2023. Vol. 14. Art. 1183319. DOI: 10.3389/fpls.2023.1183319.

Статья поступила в редакцию 5 марта 2025 г.

Поступила после доработки 10 марта 2025 г.

Принята к печати 17 марта 2025 г.

Received 5, March, 2025

Revised 10, March, 2025

Accepted 17, March, 2025