На правах рукописи

Суворова Екатерина Евгеньевна

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ БОРА И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И УСТОЙЧИВОСТЬ РОЗ В УСЛОВИЯХ ЗАЩИЩЕННОГО ГРУНТА

Специальность 06.01.04 - агрохимия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 2014

Работа выполнена на кафедре агрохимии и биохимии растений факультета почвоведения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Научный руководитель	**Верховцева Надежда Владимировна** доктор биологических наук, профессор кафедры агрохимии и биохимии растений факультета почвоведения Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова
Официальные оппоненты:	**Новиков Николай Николаевич,** доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева», профессор кафедры агрономической, биологической химии, радиологии и безопасности жизнедеятельности
	Шелепова Ольга Владимировна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Главный ботанический сад имени Н.В. Цицина Российской академии наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической физиологии и иммунитета растений
Ведущая организация:	Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова

Защита диссертации состоится «10» февраля 2015 г. в 15 ч. 30 мин. на заседании диссертационного совета Д 5001.002.13 при МГУ имени М. В. Ломоносова на факультете почвоведения.

Адрес: 119991, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ имени М. В. Ломоносова, факультет почвоведения, Ученый совет. Тел. (495) 939-29-47

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке МГУ имени М. В. Ломоносова и на сайте http://soil.msu.ru/zashchita-dissertatsii

Автореферат разослан « » 20 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук,
профессор Галина Михайловна Зенова

Общая характеристика работы

Актуальность темы.

При культивировании роз в защищенном грунте повышение их устойчивости к заболеваниям является актуальной проблемой, требующей разностороннего рассмотрения. В защищенном грунте розы находятся в условиях, которые благоприятны не только для их роста и развития, но и для размножения большого числа бактерий и грибов. Находясь постоянно под таким «микробиологическим давлением», организм растений должен активировать естественные механизмы, препятствующие проникновению патогенов, что, в свою очередь, невозможно без нормального осуществления основных процессов метаболизма.

При выращивании роз особого внимания заслуживают такой микроэлемент как бор. Значение бора в жизнедеятельности растений показано ещё в начале прошлого века (Agulhon, 1910, Brenchley 1914, Warington 1923), однако, роль и механизм его участия в обмене растительной клетки до настоящего времени изучены недостаточно (Битюцкий, 2005). Так, показано, что этот элемент может влиять на скорость и направление важнейших ферментативных реакций в растительном организме, входя в состав субстрата реакции. В частности, найдены комплексы бора с углеводами – продуктами фотосинтеза, и предполагается, что этот элемент способствует транспорту сахаридов, которые являются основным субстратом дыхания. Кроме того, бор входит в состав комплексных соединений с пектинами клеточных стенок, тем самым повышая их прочность и устойчивость растительного организма к фитопатогенам (Ходяков, 2008).

Бор участвует в метаболизме фенольных соединений, в частности, в регуляции активности полифенолоксидазы – фермента дыхательной цепи, ответственного за «раневую реакцию» у растений (Skok, McIlrath, 1958). В перечисленных биохимических процессах бор взаимосвязан с такими микроэлементами как медь, цинк, железо, необходимыми для функционирования окислительно-восстановительной цепи фотосинтеза и дыхания растения. Работ по комплексному влиянию перечисленных микроэлементов при выращивании роз в защищенном грунте нами не найдено.

Важнейшими веществами, которые обеспечивают регуляцию физиологических процессов в растениях, являются фитогормоны. К таким соединениям относятся салициловая кислота, которая играет важную роль в защите растений от микромицетов, регулируя защитный ответ при действии патогенов. Если растение не может синтезировать салицилат, его иммунная реакция снижается (Физиология растений, 2005). Он не только регулирует процессы через рецепторные системы, но и непосредственно участвует в работе ряда ферментов, индуцируя синтез многих PR-белков (от англ. pathogenesis related –связанных с патогенезом), таких как глюканазы и хитиназы. Одна из

функций этих ферментов – расщепление клеточной стенки патогена (Физиология растений, 2005).

Зависимость жизнедеятельности растений от целого ряда микроэлементов, их взаимосвязь с макроэлементами и фитогормонами оставляет много вопросов физиолого-биохимического характера, что определило направление нашего исследования.

Цель работы. Исследовать физиолого-биохимические особенности влияния бора во взаимосвязи с медью, цинком и железом, а также макроэлементами и с салициловой кислотой на рост, развитие и устойчивость роз сорта Lovely Red в условиях защищенного грунта при недостаточном и сбалансированном уровне минерального питания.

Задачи исследования:

1. Исследовать влияние некорневой обработки роз растворами борной и салициловой кислоты на морфометрические показатели растений
2. Показать влияние некорневой обработки роз растворами борной и салициловой кислоты на углеводно-белковый обмен:
   - содержание моно- и дисахаридов, общего и белкового азота
   - содержание и распределение макроэлементов в вегетативных частях растений
3. Показать влияние некорневой обработки растворами борной и салициловой кислоты на:
   - протекание окислительно-востановительных процессов (активность полифенолоксидазы и аскорбатоксидазы) дыхательной цепи растений
   - показатель устойчивости (пассивный иммунитет) растений к инфекционным заболеваниям (сумма органических кислот)
   - содержание и распределение микроэлементов в вегетативных частях растений
4. Обосновать оптимальную дозу борной кислоты для некорневой обработки роз.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование влияния различных доз борной и салициловой кислоты на физиолого-биохимические процессы, протекающие в розах при выращивании в защищенном грунте. Показано влияние некорневых обработок на содержание необходимых макро- и микроэлементов в различных вегетативных частях растений (листьях, стеблях, корнях), на углеводно-белковый обмен, на окислительно-востановительные реакции в дыхательной цепи растений, а также на активацию защитных механизмов, препятствующих проникновению патогенов. Обоснована оптимальная доза борной кислоты, вносимая при некорневой обработке роз для повышения устойчивости растений к заболеваниям и улучшения их продуктивности.

Практическая значимость. Полученные результаты могут быть использованы в тепличных хозяйствах для улучшения минерального питания и повышения стрессоустойчивости роз к инфекционным заболеваниям путем коррекции доз борных удобрений и салициловой кислоты при некорневой обработке растений.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на заседаниях кафедры агрохимии и биохимии растений факультета почвоведения МГУ имени М.В.Ломоносова, Международной конференции «Биология – наука XXI век», май, 2012 год, XX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2013», апрель, 2013 год.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность научному руководителю, доктору биологических наук, профессору Надежде Владимировне Верховцевой за ежедневную поддержку, помощь в решении проблем и консультацию по научным вопросам. Автор благодарен кандидату биологических наук, старшему научному сотруднику Елене Борисовне Пашкевич за помощь в проведении исследований и анализов, а также агроному совхоза декоративного садоводства «Ульяновский» кандидату биологических наук Андрею Генриховичу Андрееву за техническую поддержку в проведении опытов на базе тепличного хозяйства. Заведующему кафедрой агрохимии и биохимии растений академику РАСХН Василию Григорьевичу Минееву и всем сотрудникам кафедры агрохимии и биохимии растений за помощь в проведении научной работы и доброжелательность.

Содержание работы

1. Некоторые эколого-физиологические аспекты выращивания роз в защищенном грунте. Обзор литературы

В обзоре литературы приведены результаты исследований по изучению возможного влияния бора и салициловой кислоты на физиолого-биохимические процессы, протекающие в растениях, и работу ряда защитных механизмов. Проанализированы данные об особенностях минерального питания роз макро- и микроэлементами в условиях защищенного грунта, приведены материалы о влиянии обеспеченности роз элементами питания на пассивный иммунитет (устойчивость) растений к инфекционным заболеваниям.

2. Объекты и методы исследования

Исследования проводили на базе совхоза декоративного садоводства «Ульяновский» в 2011-2012 гг. в условиях защищенного грунта.

Объектами исследования были розы сорта «Lovely Red». В качестве грунта использовали смесь из торфяного питательного субстрата (Т) и перлита

(П) в объемном соотношении (Т:П) 1:3. Укоренение черенков, необходимых для осуществления вегетационных опытов, проводились по ранее разработанной методике (Сухая и др., 2008).

После укоренения растения вместе со всем грунтом были перенесены в вегетационные сосуды объемом 1,2 литра. Полив растений проводился дистиллированной водой через два дня на всём протяжении каждого опыта.

Вегетационный опыт в 2011 году, который был проведен при низком уровне минерального питания, включал 6 вариантов, по 15 растений на каждый вариант. За основу для расчёта концентраций растворов по содержанию бора использовалась смесь Хогланда, где оно составляет 0,6 г/л. Схема опыта была следующей: Контроль - дистиллированная вода, В*2 - H_3BO_3 1,2 г/л, В*5 - H_3BO_3 3,1 г/л В*10 - H_3BO_3 6,1 г/л, СК- 2мМ салициловая кислота, СК + В*2 - 2мМ салициловая кислота + H_3BO_3 1,2 г/л. Некорневую обработку проводили согласно схеме опыта один раз в 2 недели в течение 65 суток. Через 2 недели после последней обработки опыт был завершен, растения были извлечены из грунта, взвешены и далее использованы для анализа.

Вегетационный опыт в 2012 году был проведен при сбалансированном уровне минерального питания за счет корневой подкормки смесью Кнопа 4 раза через каждые две недели. За основу для расчёта концентраций растворов борной кислоты при некорневой обработке, так же как в первом опыте, использовали смесь Хогланда. Опыт включал 7 вариантов, по 15 растений на каждый вариант: Контроль - дистиллированная вода, В*2 - H_3BO_3 1,2 г/л, В*5 - H_3BO_3 3,1 г/л, В*10 - H_3BO_3 6,1 г/л, В*25 - H_3BO_3 15,2 г/л, СК- 2мМ салициловая кислота, СК + В*2 - 2мМ салициловая кислота + H_3BO_3 1,2 г/л. Некорневая обработка проводилась согласно схеме опыта один раз в 2 недели в течение 65 суток. Через 2 недели после последней обработки опыт был завершен, растения были извлечены из грунта, взвешены и далее использованы для анализа.

Смесь Кнопа, г/л		Смесь Хогланда, г/л	
$Ca(NO_3)_2$	1,00	$SnCl_2$	0,028
KH_2PO_4	0,25	KJ	0,028
$MgSO_4$	0,25	$CuSO_4$	0,050
KNO_3	0,25	$ZnS0_4$	0,050
Fe SO_4	0,05	$CoSO_4$	0,070
		$Al_2(SO_4)_3$	0,026
		Mn SO_4	0,390
		H_3BO_3	0,610
		Si (диатомит)	0,100

Средняя температура воздуха в теплице в течение опытного периода вегетации растений составила 22,0 ±2°С, влажность воздуха − 65±5%.

Агрохимические методы исследования

Агрохимические показатели были определены по общепринятым методикам для тепличных грунтов (Практикум по агрохимии, 2001]. Содержание общего азота, фосфора и калия в листьях, стеблях и корнях роз определяли после мокрого озоления по Гинзбург с концентрированной H_2SO_4 и добавлением концентрированной хлорной кислоты в качестве катализатора: $N_{общ}$ – по Кьельдалю, K_2O – атомно-эмиссионным методом на пламенном фотометре Flama FP 640, Финляндия, P_2O_5 – колориметрически с окрашиванием по Дениже на приборе КФК-3-01 «30МЗ». Водорастворимый калий и фосфор в грунте определяли теми же методами в водной вытяжке из воздушно-сухих образцов при соотношении грунт:вода=1:10. Содержание меди, цинка и железа определяли после сухого озоления и последующего растворения золы в 10% HCl методом атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией пробы в графитовых печах с платформой Львова на приборе «МГА-915МД». При озолении растительного материала для определения бора в каждую чашку добавляли 0,1 г CaO. Содержание бора определяли фотометрическим методом с кармином на калориметре КФК-3-01 «30МЗ».

Белковый азот определяли после осаждения белка и мокрого озоления фильтра в концентрированной серной кислоте с добавлением концентрированной хлорной кислоты в качестве катализатора методом Кьельдаля, углеводы – фотометрически с пикриновой кислотой.

В свежей массе растений после соответствующей подготовки (Физиологические и биохимические методы анализа растений, 2000) определяли активность ферментов аскорбатоксидазы и полифенолоксидазы, которые оценивали по количеству окисленной аскорбиновой кислоты.

Для статистической обработки результатов и их графического представления использовали программы «Excel 2003»,«Statistica 6.0».

3. Результаты и обсуждения

3.1. Агрохимические показатели грунта

Содержание основных макроэлементов в субстратах, используемых для закладки вегетационных опытов, отличалось по годам (табл. 1). Так, в субстрате для вегетационного опыта в 2012 году содержание азота было на 50% ниже по сравнению с 2011 годом, а содержание водорастворимых форм калия было в 3 раза выше. В современной литературе приведены различные значения оптимальных концентраций калия и фосфора в питательных субстратах для роз (Лях, 1999), однако, в большинстве работ они в несколько раз превышают показатели используемых в работе торфо-грунтов по данным элементам питания. Таким образом, в 2011 году, на протяжении всего вегетационного опыта растения испытывали недостаток элементов питания, что отразилось на росте и развитии роз. Особенно было необходимо обратить внимание на

соотношение основных макроэлементов в грунте (N:P:K = 15:1:1,5). То есть, если соотношение фосфора и калия почти полностью соответствуют тому значению, которое в среднем называется для всех культур, в том числе и для роз N:P:K = 5:1:1,4 (Федоров, 2007) , то для минерального азота оно было в пять раз больше. Конечно, для растений характерна избирательность поглощения, т.е. способность растения потреблять и накапливать в своих тканях элементы минерального питания независимо от соотношения между этими элементами в среде, но при этом ориентируются на элемент, который в минимуме (Ниловская, Арбузова, 1978), а содержание фосфора и калия было очень низким.

Таблица 1. Агрохимические показатели грунтов, используемых для закладки вегетационных опытов.

Показатели	Содержание в грунте, мг/кг	
	2011 г	2012 г.
Азот (NO_3^-)	1181,1±94,5	586,2±46,9
Фосфор (P_2O_5)	75,2±6,0	54,4±4,3
Калий (K_2O)	113,6±9,1	300,0±21,0
Медь	1,4± 0,1	0,9±0,1
Цинк	7,5±0,6	10,9±0,9
Железо	6,8±0,5	2,1±0,2
Бор	1,3±0,1	3,3±0,3
pH	5,3	5,5

Значение pH грунтов, используемых для закладки опыта, в среднем составило 5,4 (табл. 1). По окончанию опыта без проведения подкормки смесью Кнопа, pH грунтов отличался по вариантам в пределах 5,6-6,6, в то время как в вегетационном опыте с использованием смеси Кнопа при корневой подкормке растений, колебания значений этого показателя были незначительны.

3.2. Морфометрические показатели растений вегетационных опытов

В вегетационном опыте в 2012 году (сбалансированный уровень минерального питания) наибольшее количество выживших растений на момент завершения опыта было отмечено на вариантах В*5 и В*25, на этих же вариантах были отмечены растения, вступившие в фазу цветения (рис.1). В то же время среди выживших растений наибольший прирост биомассы наблюдался на вариантах В*2 (69%). Далее располагались варианты Контроль и В*10 (около 40%) и В*5 (34%). На варианте В*25 прирост биомассы был незначителен. Это позволило сделать вывод о том, что 25-кратная доза борной кислоты относительно указанной в смеси Хогланда, угнетает рост и развитие растений. Как будет показано ниже (раздел 3.3), содержание суммы сахаридов на данном варианте было ниже, чем на варианте В*2 в 2 раза, что может свидетельствовать о подавлении процесса фотосинтеза и, как следствие, снижение увеличения растительной биомассы.

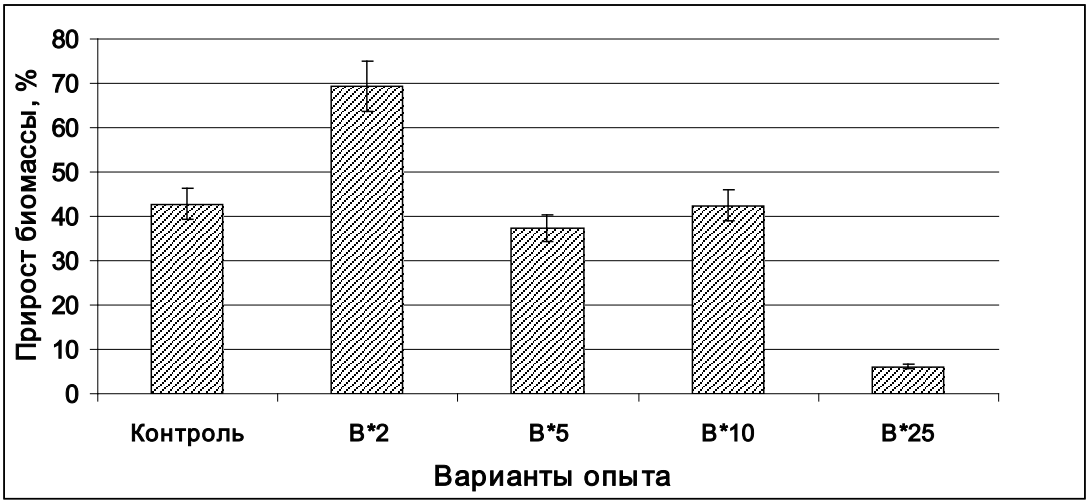

Рисунок 1. Прирост биомассы растений при сбалансированном уровне минерального обеспечения по вариантам вегетационных опытов 2012 г.

На варианте с совместным применением борной и салициловой кислот (В*2+СК) значимого прироста биомассы растений в условиях сбалансированного минерального питания не было отмечено, а на варианте с обработками салициловой кислотой прирост был в шесть раз меньше, чем при несбалансированном уровне макроэлементов (рис.1 и 2).

Так, прирост биомассы на вариантах с обработкой роз раствором салициловой кислоты и суммой кислот был значительно выше в опыте при несбалансированном уровне минерального питания (рис. 2).

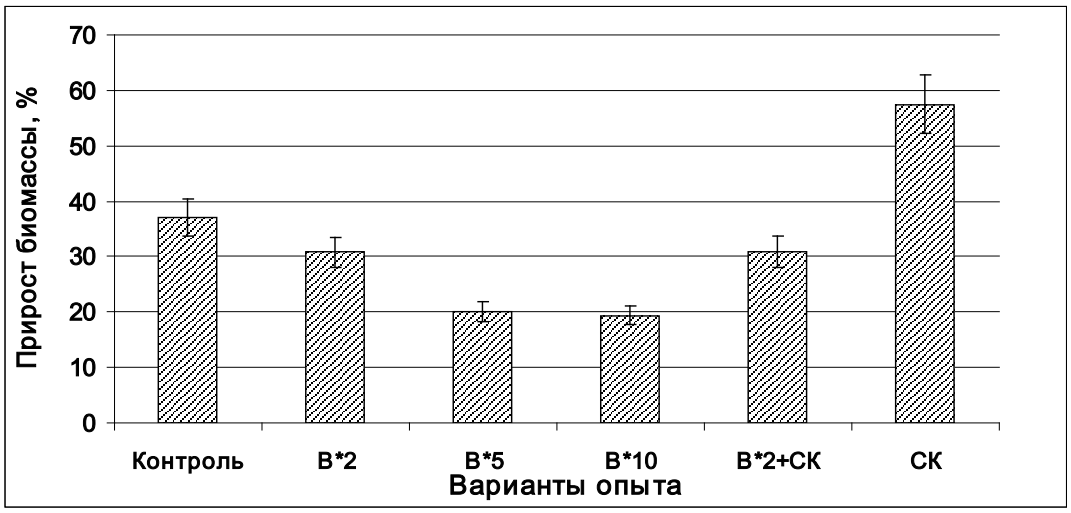

Рисунок 2. Прирост биомассы растений при низком уровне минерального обеспечения по вариантам вегетационных опытов 2011 г.

Данные результаты показывают «острую» реакцию растения на некорневую обработку антистрессовым препаратом в условиях такого лимитирующего фактора, как дефицит элементов питания.

3.3. Влияние некорневых обработок борной и салициловой кислотой на углеводно-белковый баланс в растениях, содержание и распределение макроэлементов по вегетативным частям растений

О протекании важнейших физиологических процессов в растении, таких как фотосинтез и дыхание, можно судить по состоянию углеводно-белкового баланса в растительном организме. Моносахариды, как продукт фотосинтеза, являются основным субстратом дыхания и, следовательно, получения растением энергии для синтетических процессов.

Содержание моносахаридов в листьях роз было выше на варианте с обработкой салициловой кислотой на 64%, а на варианте с обработкой двумя кислотами – на 79% относительно контрольного варианта (рис. 3).

Содержание моносахаридов в корнях роз снижалось по мере увеличение доз борной кислоты и на варианте В*10 было в 6 раз меньше, чем на контрольном варианте и варианте В*2 (рис. 3). Такая тенденция объяснима при учете значения бора в транспорте углеводов в корневую систему, которые растения «сжигают» как энергетический субстрат для синтеза белка в «биохимической лаборатории» корней (Сабинин, 1975). Действительно, отмечена высокая корреляционная зависимость между содержанием моносахаридов и белкового азота в корнях растений (рис.5) на вариантах с обработкой растворами борной кислоты (r=0,99 при P=0,95).

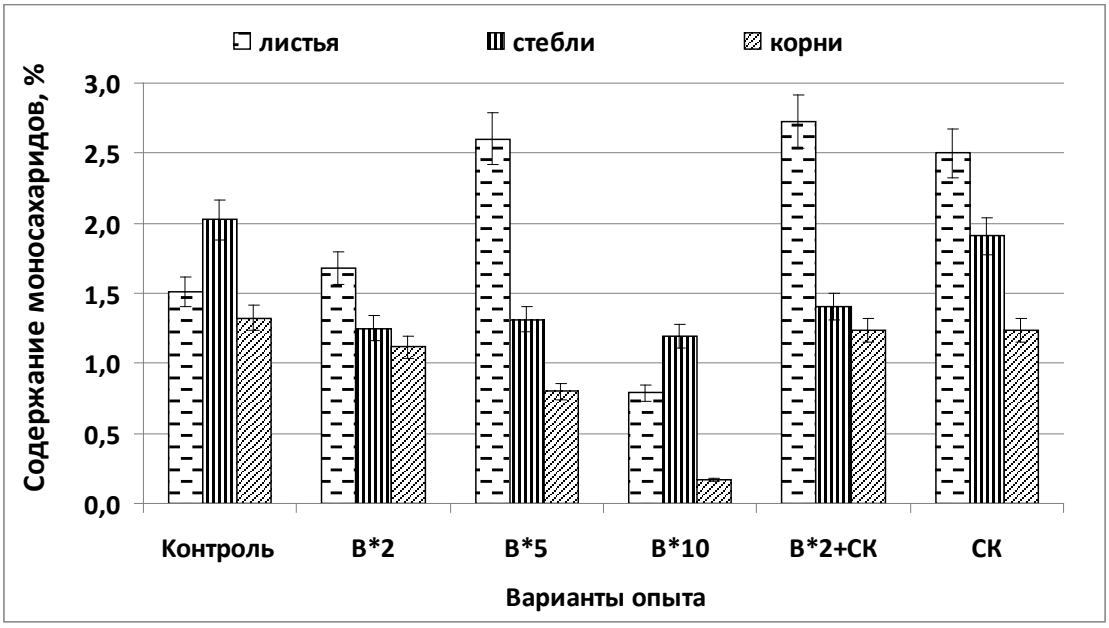

Рис. 3 Содержание моносахаридов в вегетативных частях роз при низком уровне минерального питания (2011 г.)

Оказывая влияние на углеводный обмен, бор, тем самым, регулирует азотный метаболизм, синтез белков, и, как следствие, образование корней, рост и развитие растительного организма (Битюцкий, 2005).

Максимальное содержание общего азота в корнях роз было отмечено при некорневой обработке растений раствором борной кислоты в концентрации 6,1 г/л (В*10) и превышало содержание данного макроэлемента в других вариантах в среднем на 50% (рис. 4). Содержание общего азота в листьях возрастало по мере увеличения доз борной кислоты и на вариантах В*5 и В*10 было выше, чем на контрольном варианте на 25% и на 32% соответственно.

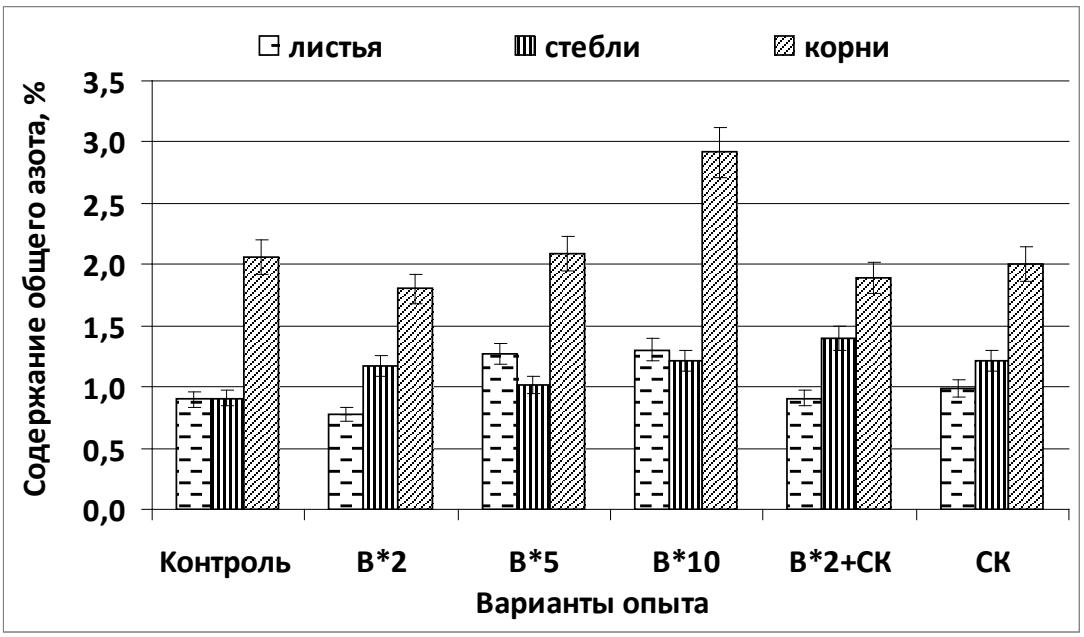

Рис. 4 Содержание общего азота в вегетативных частях роз при низком уровне минерального питания (2011 г.)

Содержание белкового азота в корнях растений (рис. 5) в вегетационном опыте без применения смеси Кнопа в качестве корневой подкормки имело ту же зависимость от доз борной кислоты, вносимой при некорневой обработке, что и содержание общего азота. Таким образом, данные исследования показали положительный эффект некорневых обработок борной кислотой на азотный метаболизм роз при недостаточном минеральном питании.

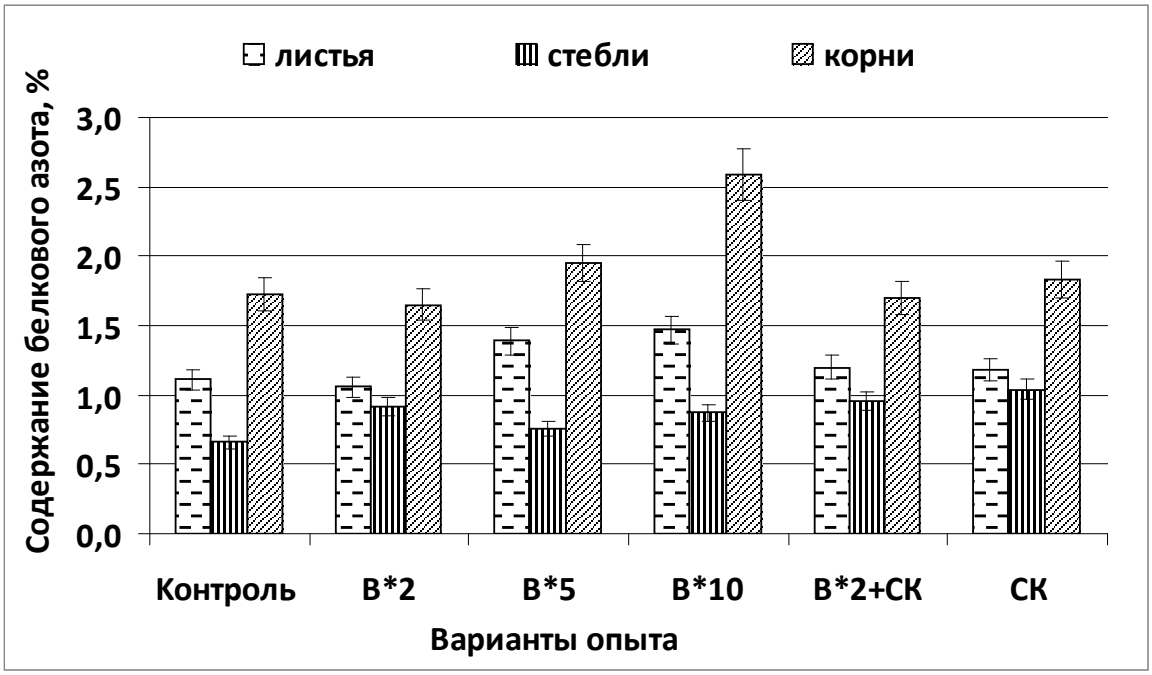

Рис. 5 Содержание белкового азота в вегетативных частях роз при низком уровне минерального питания (2011 г.)

При проведении корневой подкормки смесью Кнопа содержание моносахаридов в листьях роз значимо не отличалось на вариантах с внесением борной кислоты в сравнении с этими показателями в вегетационном опыте с низким уровнем обеспеченности элементами питания.

Содержание моносахаридов в листьях роз вегетационного опыта с внесением смеси Кнопа, при корневой подкормке на вариантах с обработкой салициловой кислотой было в 1,5-2 раза ниже, чем на тех же вариантах опыта без подкормки питательной смесью (рис. 6). По-видимому, уменьшение влияния обработок салициловой кислотой на углеводный обмен в розах, при более благоприятных условийях питания, определяется снижением стрессовой нагрузки на организм растения, и, как следствие, отсутствие необходимости вовлечения салицилатов в механизмы синтеза антистрессовых белков и соответствующее усиление фотосинтеза для производства сахаридов.

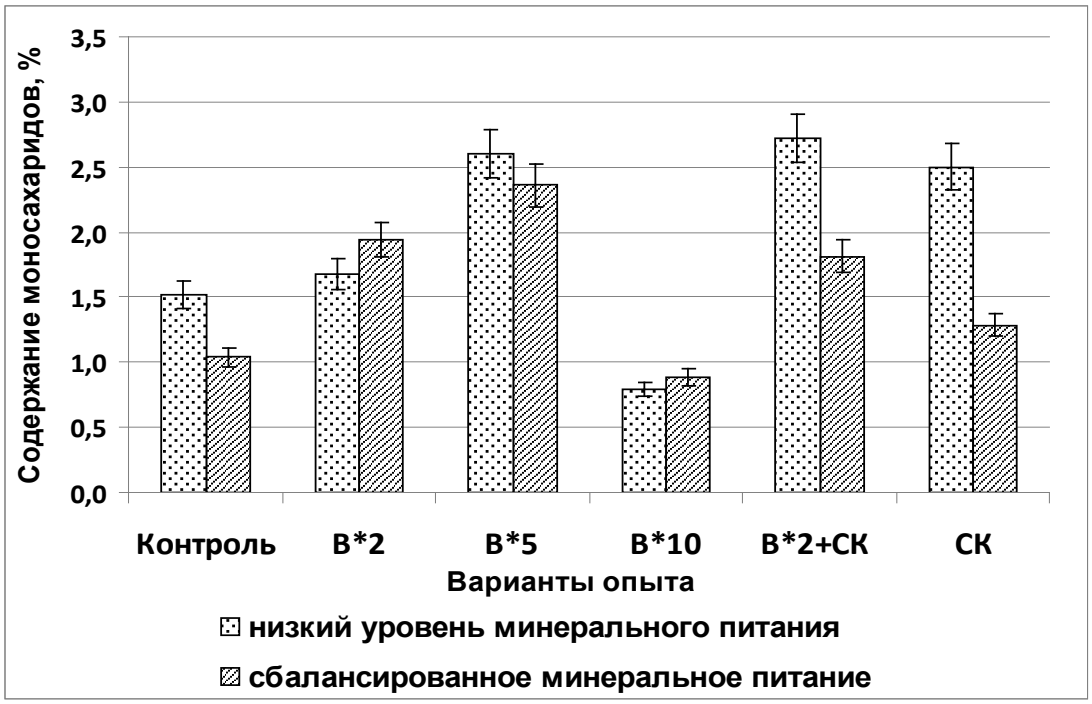

Рис. 6. Сравнение содержания моносахаридов в листьях роз при низком и сбалансированном уровне минерального обеспечения по вариантам вегетационных опытов 2011-2012 гг.

В опыте с низким уровнем минерального питания на вариантах с обработкой салициловой кислотой содержание углеводов в листьях было выше контрольного варианта на 40% на варианте В*2+СК и на 50% на варианте СК (рис. 7). Также подобная тенденция наблюдалась при обработке роз раствором борной кислоты в концентрации 3 г/л (В*5). Увеличение содержания углеводов в листьях может свидетельствовать о более активном протекании фотосинтеза в растении, и косвенно являться подтверждением более устойчивого состояния организма при проведении соответствующих корневых подкормок, чем без них.

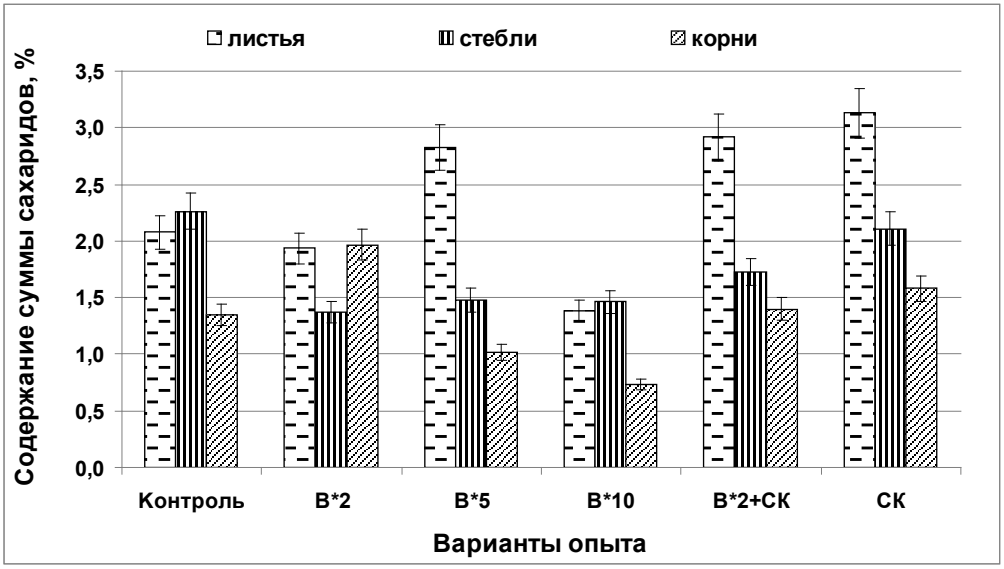

Рисунок 7. Содержание суммы сахаридов в вегетативных частях роз при несбалансированном уровне минерального питания по вариантам вегетационного опыта (2011 г.)

Содержание суммы сахаридов в стеблях роз снижалось по мере увеличения доз борной кислоты, вносимой при некорневой подкормке (рис. 8), и на варианте с обработкой 25- кратной дозой было в 2 раза ниже, чем на контрольном варианте и варианте с внесением 2 - кратной дозы борной кислоты относительно принятой в смеси Хогланда. При некорневой обработке растений раствором салициловой кислоты содержание суммы сахаридов в корнях роз было более чем в 2 раза выше относительно контрольного варианта опыта, что свидетельствует о транспорте продуктов фотосинтеза в «биохимическую лабораторию» (Сабинин, 1971) корневой системы роз. Кроме того, как показано, (Raskin, 1992) салициловая кислота способствует развитию адвентивных корней у растений, что, возможно, наблюдается и в нашем опыте.

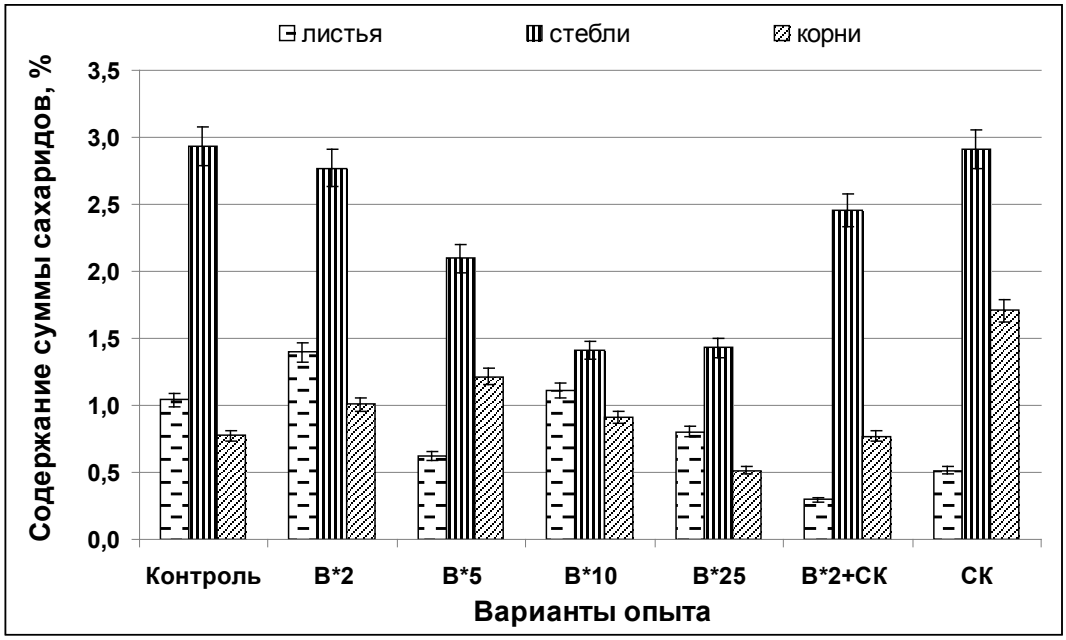

Рисунок 8. Содержание суммы сахаридов в вегетативных частях роз при сбалансированном уровне минерального питания по вариантам вегетационного опыта 2012 г.

Важнейшими элементами для питания растений наряду с азотом являются фосфор и калий. Калий влияет на транспорт углеводов за счёт образование градиента электрического потенциала на ситовидных пластинах, при его недостатке нарушается транспорт сахарозы по флоэме (Физиология растений, 2004). Также K^+– активируемый фермент – крахмалсинтаза, осуществляет присоединение глюкозы к крахмалу, в результате чего происходит удлинение полисахаридной цепи (Физиология растений, 2005).

Содержание калия в листьях при низком уровне минерального питания на вариантах В*2+СК и СК было выше относительно контрольного варианта на 34% и 26% соответственно (рис. 9). Также содержание данного макроэлемента в стеблях роз увеличилось по сравнению с контролем на варианте СК на 35 %. Вероятно, это связано с тем, что одной из функций салициловой кислоты, как фитогормона, является ее регулирующая роль в устьичных движениях (Raskin,

1992; Запрометов, 1996), следовательно, она влияет на интенсивность фотосинтеза и углеводный обмен в растениях. Как было показано выше (рис. 7), на вариантах с обработкой этим препаратом наблюдалось увеличение содержания углеводов в листьях, которое, в свою очередь, связано с повышенным содержание калия на данных вариантах. Коэффициент корреляции между калием и суммой сахаридов составил r = 0,7 (P=0,95) для всех частей растений.

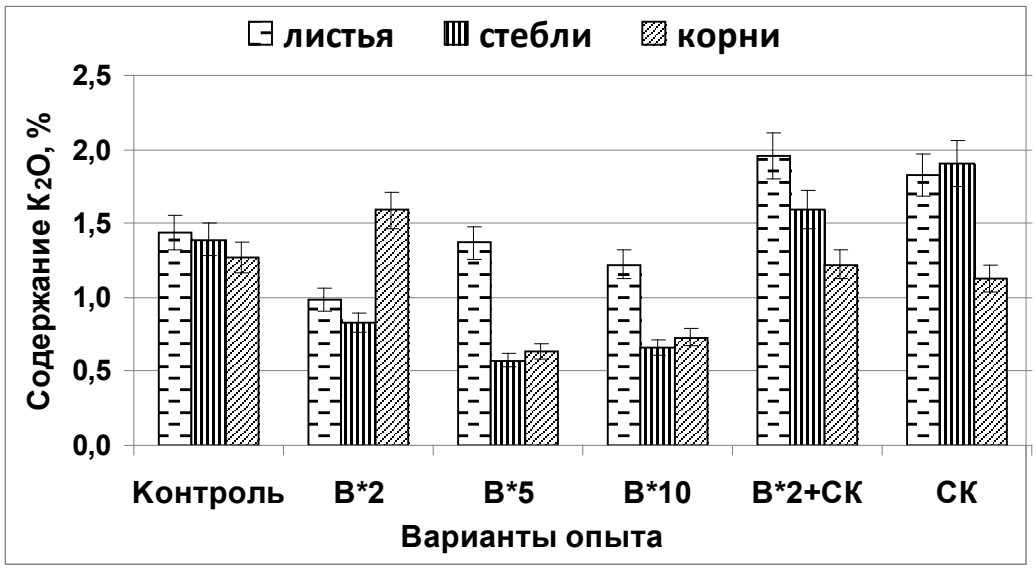

Рис. 9 Содержание калия в вегетативных частях роз при несбалансированном минеральном питании по вариантам вегетационного опыта 2011 г.

На фоне проведения корневой подкормки растений смесью Кнопа, на момент завершения вегетационного опыта содержание калия в листьях значимо не отличалось от контрольного варианта (рис. 10). При некорневой обработке салициловой кислотой содержание данного макроэлемента в корнях роз возросло на 32% относительно контрольного варианта, что подтверждает высказанное выше предположение.

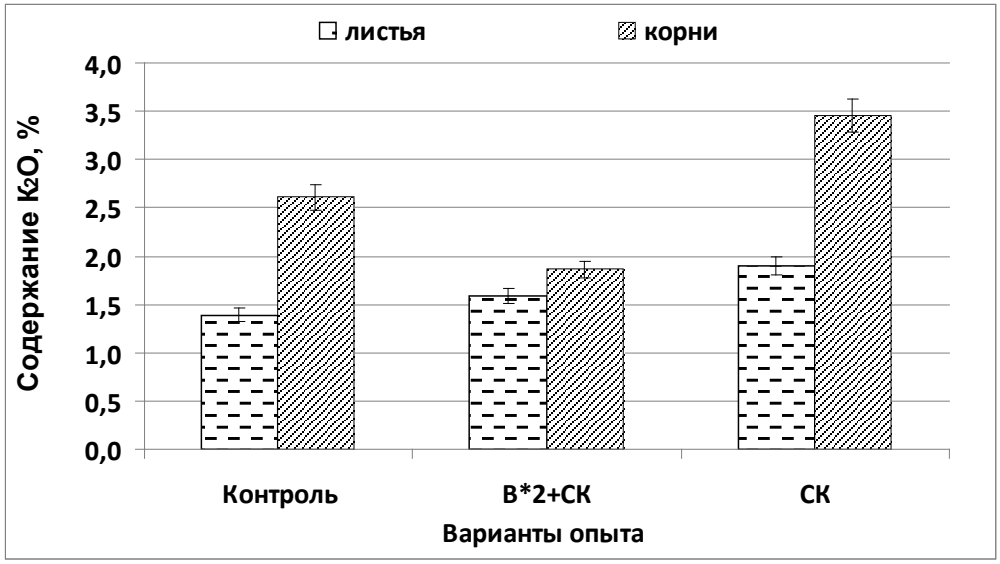

Рис. 10 Содержание калия в листьях и корнях роз при сбалансированном уровне минерального обеспечения по вариантам вегетационных опытов 2012 г.

Содержание фосфора в корнях роз было ниже при некорневой обработке борной кислотой по сравнению с контролем (рис. 11). На варианте В*2 оно снизилось на 67% по сравнению с контрольным вариантом, на вариантах В*5 и В*10 – на 44%. Вероятно, это связано с тем, что у хорошо обеспеченных фосфором растений часть фосфатов транспортируется по ксилеме в листья, а транспорт по корню осуществляется в виде фосфорных эфиров сахаридов. Бор влияет на транспорт сахаридов в растении и тем самым способствует транспорту фосфора в листья. Это может быть косвенно подтверждено увеличением почти на 50 % содержания фосфора в листьях на варианте В*5 по сравнению с контролем (рис. 11). Как было показано выше (рис.3), содержание моносахаридов в листьях роз также выше на варианте с обработкой листьев раствором борной кислоты в концентрации В*5 как при низком, так и при сбалансированном уровне минерального питания.

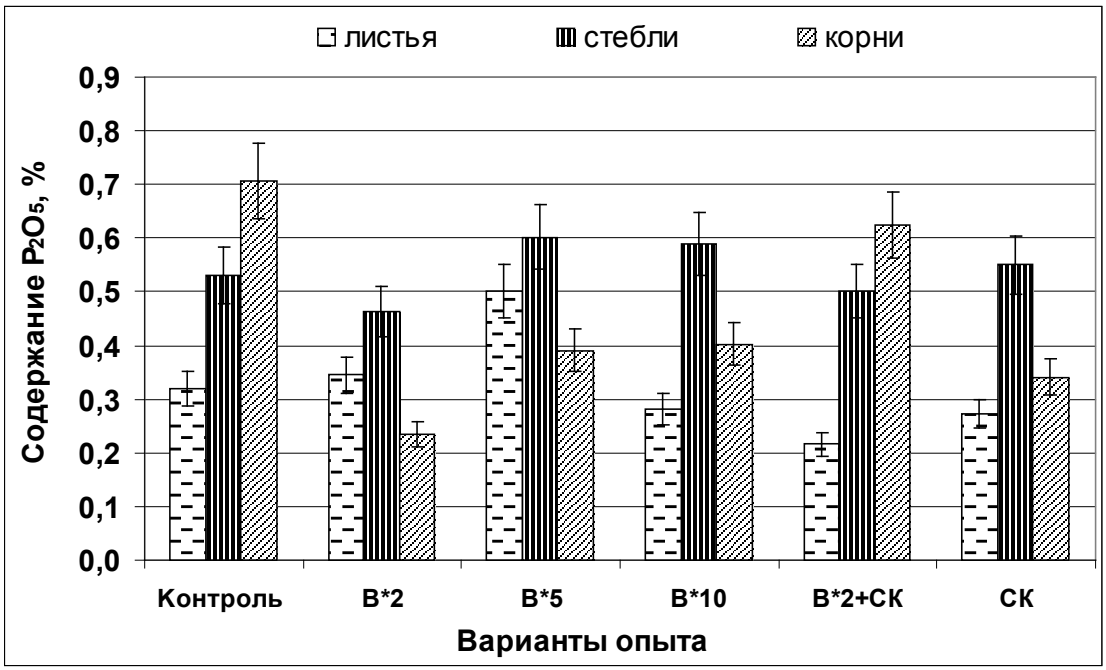

Рис. 11 Содержание фосфора в вегетативных частях роз при низком уровне минерального питания по вариантам вегетационного опыта 2011 г.

Аналогичные данные были получены при корневой обработке растений смесью Кнопа на протяжении вегетационного опыта (рис. 12). Содержание фосфора в корнях роз при обработке растений раствором борной кислоты в двух меньших концентрациях (В*2 и В*5) было ниже по сравнению с контрольным вариантом в среднем на 50%, а в листьях на варианте обработкой в концентрации 1,2 г/л (В*2) содержание данного макроэлемента возросло на 50% относительно контроля. В отличие от вегетационного опыта без использования корневой подкормки, в данном опыте обработка растений салициловой кислотой и смесью кислот показала значимое увеличение содержание фосфора в листьях растений по сравнению с контрольным вариантом на 62% (СК) и 30% (СК + В*2). Так как фосфор отвечает за энергетику превращение углеводов в растениях, увеличение его содержания в листьях роз под действием салициловой и борной кислоты свидетельствует о

нормальном протекании углеводного обмена. В подтверждение этого, содержание углеводов в листьях на этих вариантах опыта было выше относительно контрольного варианта (рис.8).

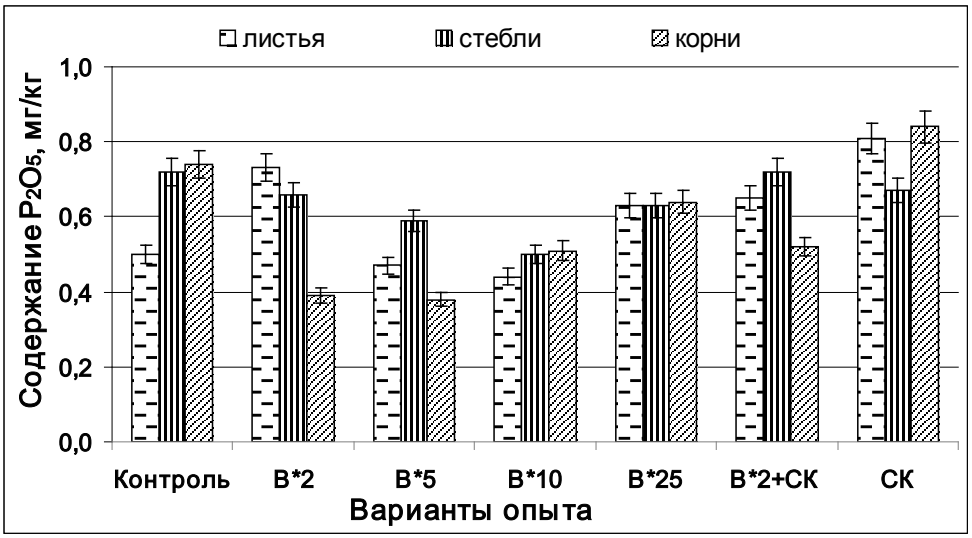

Рис. 12 Содержание фосфора в вегетативных частях роз при сбалансированном уровне минерального питания по вариантам вегетационного опыта 2012 г.

3.4. Влияние борной и салициловой кислоты на показатель устойчивости (пассивный иммунитет) растений к инфекционным заболеваниям (по сумме органических кислот) и окислительно-востановительные процессы дыхательной цепи растений (по активности полифенолоксидазы и аскорбатоксидазы)

При увеличении концентрации борной кислоты, вносимой при некорневой обработке, сумма органических кислот в стеблях роз была в 7-20 раз выше по сравнению с контрольным вариантом (рис. 13), и максимально составила 2,1 % на варианте с обработкой борной кислотой в концентрации 6,1 г/л (В*10).

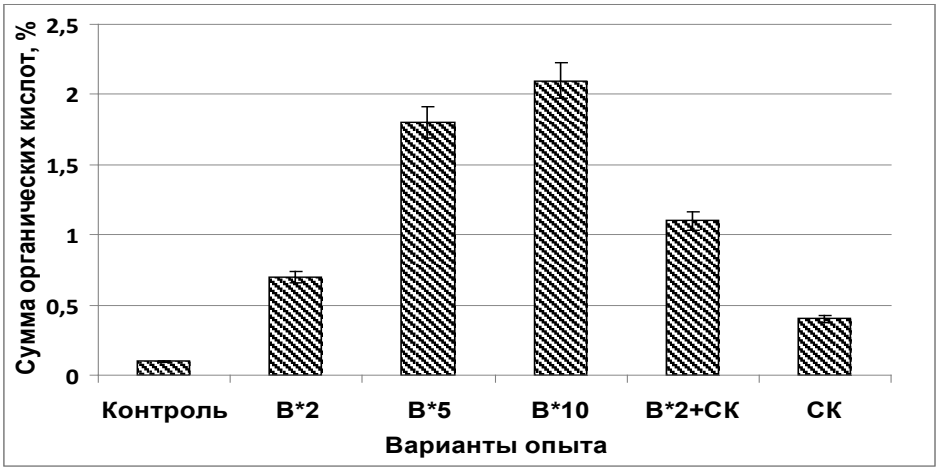

Рис. 13 Содержание суммы органических кислот в стеблях роз при низком уровне минерального питания на вариантах вегетационного опыта 2011 г.

При некорневой обработке салициловой кислотой сумма органических кислот также возросла относительно контроля в 4 раза, при совместном применении кислот – в 11 раз. Такая тенденция соотносится с теорией Комеса

(Шкаликов, Дьяков, Смирнов и др, 2005), согласно которой повышение кислотности клеточного сока свидетельствует об укреплении пассивного иммунитета растения.

Активность полифенолоксидазы в корнях растений была на 90% выше на вариантах с двукратной и пятикратной дозой борной кислоты относительно рекомендованной в смеси Хогланда, чем на вариантах с более высокими дозами бора и на контрольном варианте (рис. 14). Активность этого фермента в листьях наоборот резко возрастала с увеличением доз борной кислоты, но по сравнению с контрольным вариантов была ниже на варианте В*10 и В*25 в среднем на 20%. Как отмечалось в литературе (Skok, McIlrath, 1958; Битюцкий 1999), в условиях недостатка бора накопление фенолов сопровождается увеличением активности полифенолоксидазы. Бораты могут быть прямыми ингибиторами этого фермента, однако, это имеет место лишь при концентрации элемента более 0,01 М, т.е. в 12 раз превышающей содержание этого элемента в нормальных клетках (Skok, McIlrath, 1958).

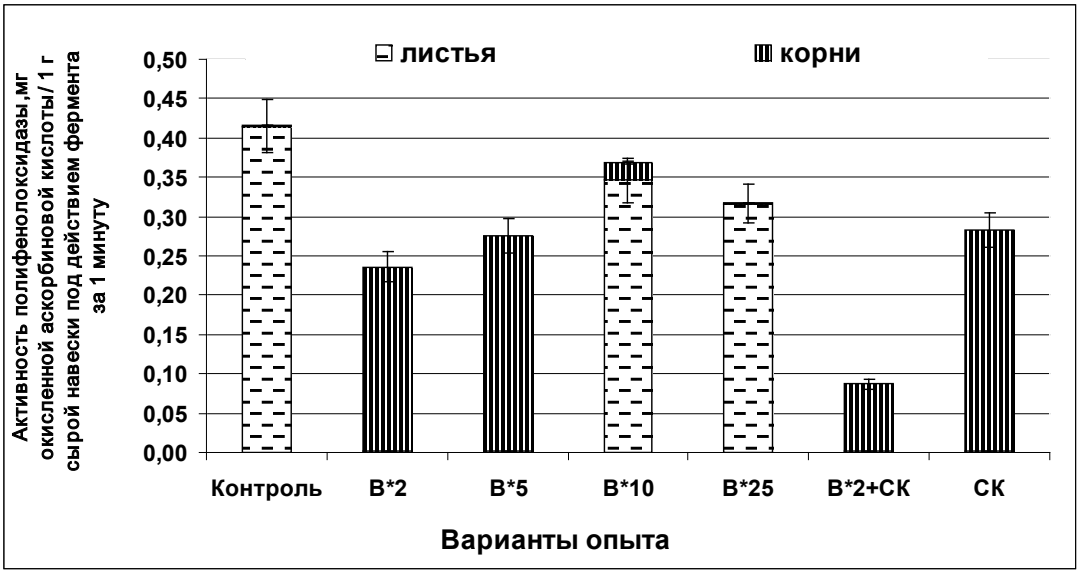

Рис. 14 Активность полифенолоксидазы в листьях и корнях роз при сбалансированном уровне минерального питания по вариантам вегетационных опытов 2012 г.

Активность аскорбатоксидазы в корнях растений увеличивалась с ростом концентрации бора, вносимой при некорневой обработке, и на варианте В*25 составила 0,300 мг окисленной аскорбиновой кислоты/ г сырой навески, что было в 5 раз выше, чем на варианте В*2 (рис. 15).

Активность данного фермента в листьях роз повышалась при некорневой обработке салициловой кислотой, и на данном варианте была более чем в 2 раза выше по сравнению с контрольным вариантом. По-видимому, это связано с тем, что салициловая кислота участвует в функционировании НАДФН-оксидазной-системы, за метаболическую активность которой отвечает аскорбатоксидаза антиоксидантный фермент. Увеличение концентрации салицилата в растительной клетке повышает активность этого фермента. В

состав фермента аскорбатоксидазы входит медь, и, как показано (рис. 16), содержание этого элемента в листьях роз на вариантах с обработкой салициловой кислотой увеличивалось пропорционально росту активности фермента.

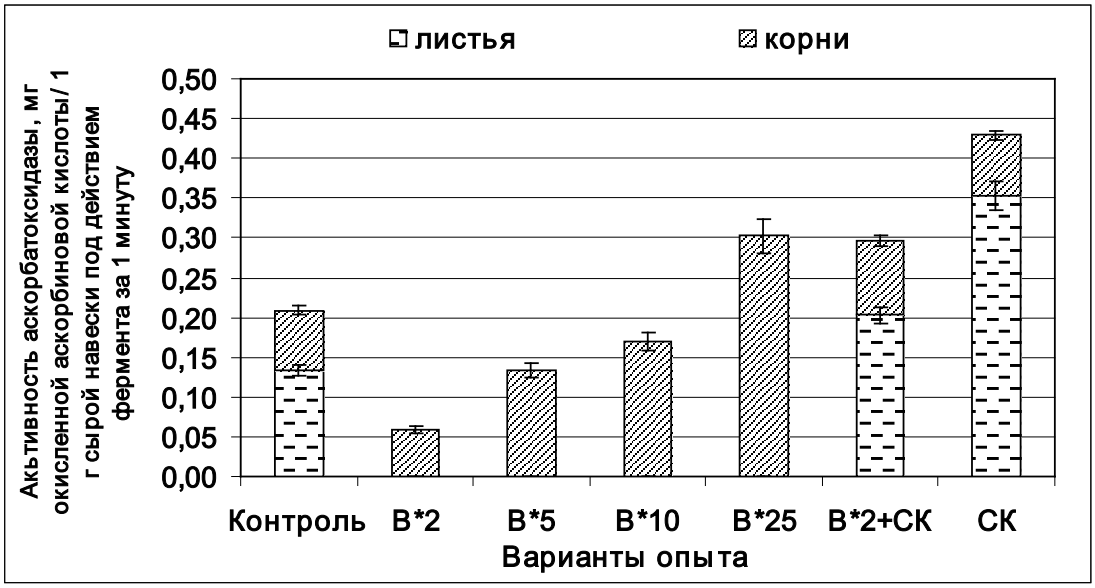

Рис. 15 Активность аскорбатоксидазы в листьях и корнях роз при сбалансированном уровне минерального питания по вариантам вегетационных опытов 2012 г.

Медь входит в состав пластоцианина – фермента контролирующего работу электронно-транспортной цепи фотосинтеза, функционирующей между фотосистемой I и II. При недостатке меди в листьях (менее 4 мг/кг, Ноллендорф, 1978) наблюдается снижение интенсивности фотосинтеза, что приводит к уменьшению содержания сахаридов в листьях. При обработке салициловой кислотой содержание меди в листьях роз возросло относительно контроля в 2 раза, при некорневой подкормке борной кислотой её содержание на варианте В*5 возросло на 42% относительно варианта В*2, на 68% относительно варианта В*25 и более чем в 2 раза увеличилось по отношению к контрольному варианту и варианту В*10 (рис. 16). Как было показано выше, содержание суммы сахаридов имело тенденцию к снижению с увеличением доз бора, вносимых при некорневой обработке, и на варианте с обработкой 25-кратной дозой борной кислоты было в 2 раза ниже, чем на варианте с двукратной обработкой. Полученные данные свидетельствуют о том, что для нормального протекания процесса фотосинтеза оптимальной дозой борной кислоты при некорневой обработке является доза равная 3,1 г/л (вариант В*2).

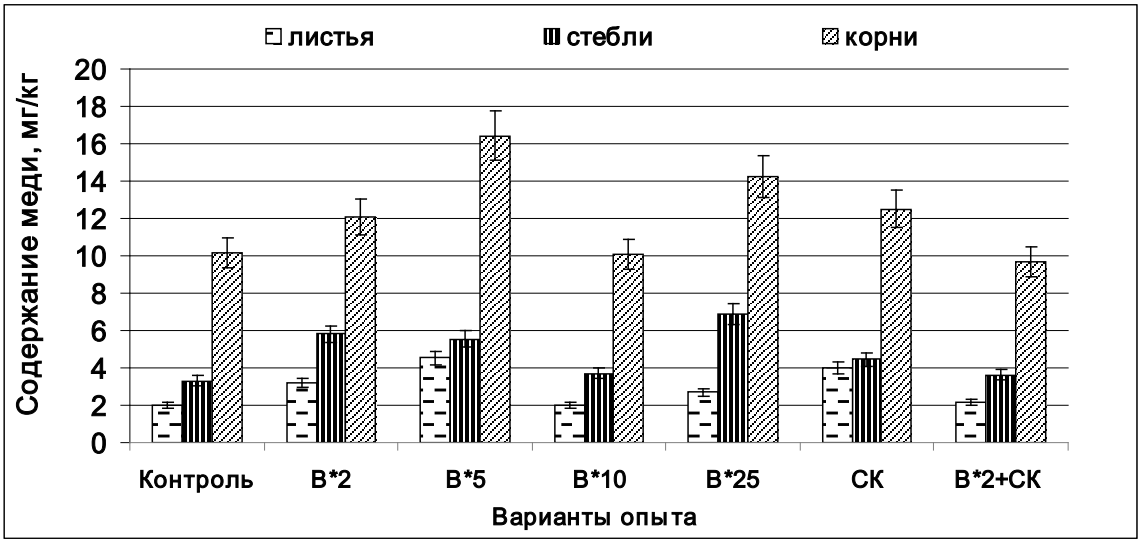

Рис. 16 Содержание меди в вегетативных частях роз при сбалансированном уровне минерального питания по вариантам вегетационных опытов 2012 г.

Цинк вместе с медью входит в состав фермента супероксиддисмутазы, который отвечает за детоксикацию супероксидного анион-радикала, и, таким образом, обеспеченность им растений влияет на работу антиоксидатной системы. Так, содержание цинка в листьях роз на варианте с некорневой обработкой борной кислотой в концентрациях 1,3 г/л (В*2) и 3,1 г/л (В*5) в 3-5 раз превышает его содержание в листьях растений других вариантов (рис. 17). Содержание данного микроэлемента в корнях максимально на вариантах с внесение салициловой кислоты и борной кислоты в концентрации 15,2 г/л (В*25). Коэффициент корреляции между содержанием меди и цинка в листьях составил 0,78 (Р=0,95).

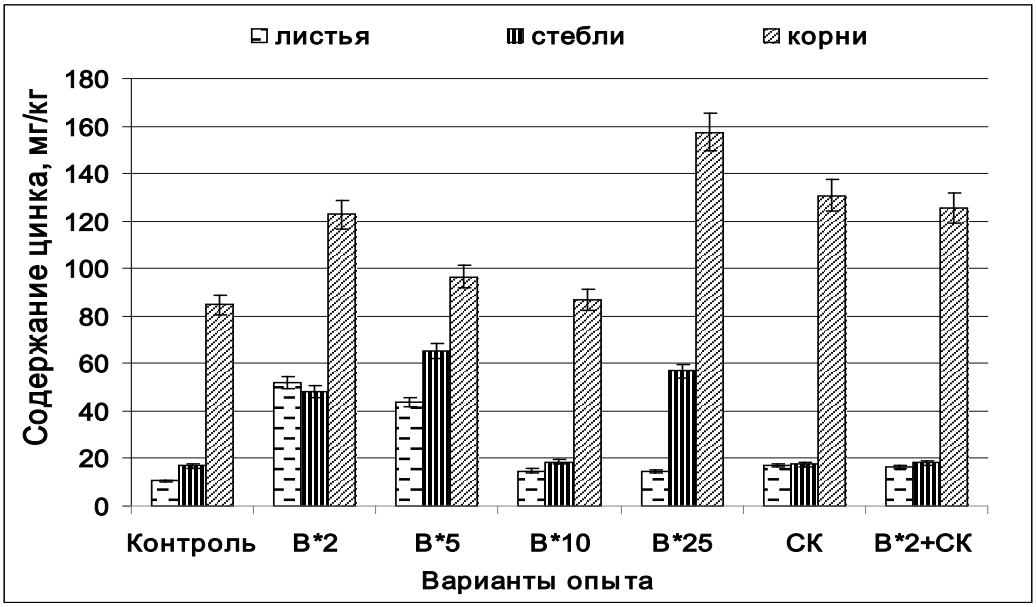

Рис. 17 Содержание цинка в вегетативных частях роз при сбалансированном уровне минерального питания по вариантам вегетационного опыта 2012 г.

Железо входит в состав цитохромов, важнейших компонентов окислительно-востановительных систем хлоропластов и электрон-транспортной цепи дыхания, а также ферментов антиоксидантной системы -

пероксидазы и каталазы (Кретович, 1971; Физиология растений, 2005). В опыте при сбалансированном минеральном питании максимальное содержание железа в корнях роз было отмечено на варианте с некорневой обработкой борной кислотой в пятикратной дозе относительно концентрации в смеси Хогланда, и оно превышает содержание на других вариантах более чем в 2 раза (рис. 22). Также на этом варианте отмечено наибольшее содержание железа в стеблях растений относительно других вариантов, за исключением варианта В*25.

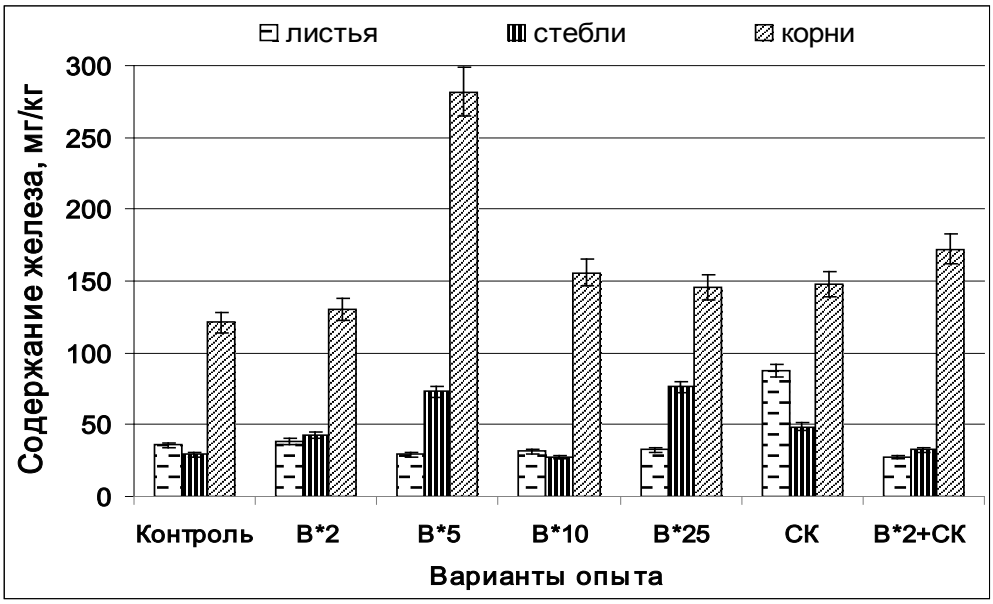

Рис. 16 Содержание железа в вегетативных частях роз при сбалансированном уровне минерального питания по вариантам вегетационных опытов 2012 г.

Таким образом, исходя из данных приведенных выше, можно сделать заключение, что некорневая обработка роз раствором борной кислоты в концентрации 3,1 г/л, оказывая влияние на активность ферментов, содержание суммы органических кислот и микроэлементов, способствует нормальному протеканию окислительно-востановительных процессов дыхательной цепи растений и повышает показатель их устойчивости (пассивный иммунитет) к инфекционным заболеваниям.

Для сравнения влияния доз борной кислоты при некорневой обработке на содержание бора, меди, моносахаридов и активность аскорбатоксидазы в розах был проведен кластерный анализ с использованием этих показателей. Кластерный подход (рис. 17) позволил показать, что варианты с обработкой борной кислоты в концентрациях 3,1 г/л (В*5) и 6,1 г/л (В*10) наиболее сильно отличались от других вариантов и составили отдельный кластер. Опираясь на данные наших исследований, можно предположить, что подобное выделение вариантов в разные кластеры связано с тем, что некорневая обработка В*5 и В*10 оказала схожее положительное влияние на активацию защитных механизмов в растении, путем регулирования содержания микроэлементов, углеводов и активности ферментов, в то время как на других вариантах это влияние было не выражено.

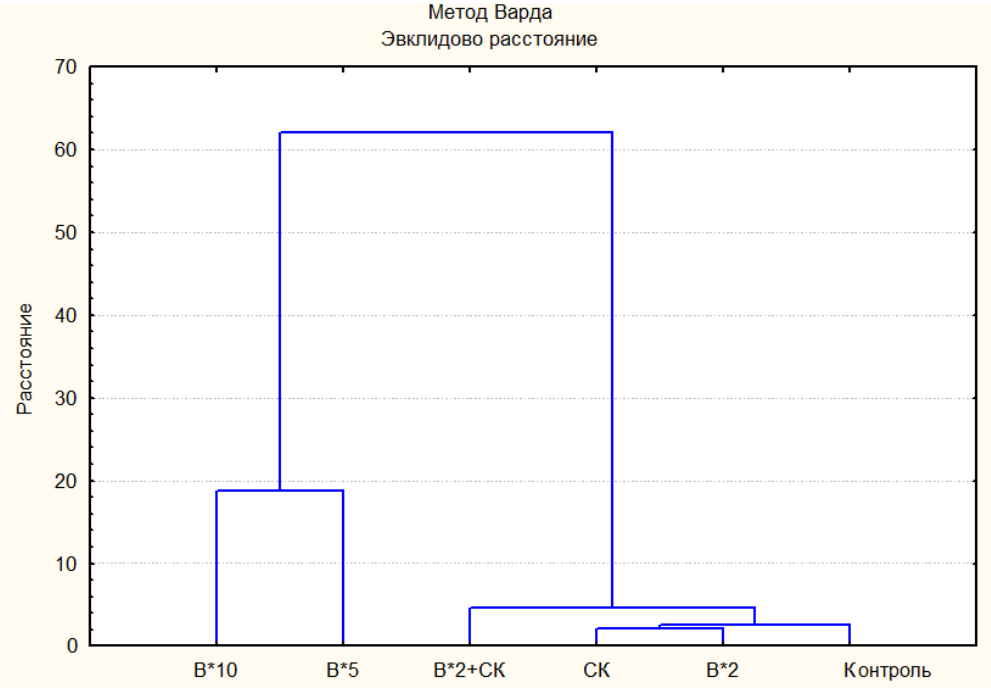

Рис. 17. Сравнение различных вариантов некорневой обработки роз на фоне низкого уровня обеспеченности элементами питания с использование Эвклидово расстояния по методу Варда (использовались показатели: содержание бора, меди и моносахаридов, активность аскорбатоксидазы).

При сбалансированном уровне минерального питания такого явного выделения отдельных вариантов обработок при проведении кластерного анализа по выбранным показателям отмечено не было.

Заключение

Проведенные исследования показали, что некорневая обработка роз растворами борной и салициловой кислот при правильном подборе концентраций оказывает положительное влияние на протекание физиологических процессов в растительной клетке, как на фоне недостаточного минерального питания, так и при корневой подкормке макроэлементами. Однако, при несбалансированном уровне питания реакция растительного организма на обработки антистрессовой салициловой кислотой, а также совместно с борной кислотой проявлялась более заметно на накопление биомассы, чем при дефиците питательных элементов. Также установлено положительное влияние обработок на работу защитных механизмов в растении и на пассивный иммунитет, путем участия салициловой кислоты и бора в регулировании работы ферментов полифенолоксидазы и аскорбатоксидазы.

Выводы

- 1. Показано, что максимальное увеличение биомассы растений (на 69%) за период вегетации отмечено на варианте с обработкой борной кислотой в концентрации 3,1 г/л.
- 2. Дозы борной кислоты от 1,2 до 6,1 г/л, применяемые для некорневой обработки на фоне низкого уровня обеспечения элементами питания, положительно влияют на интенсивность углеводно-белкового обмена, о чём свидетельствует увеличение содержания белкового азота и снижение количества моносахаридов в корнях роз.
- 3. При низком уровне обеспечения элементами питания некорневая обработка салициловой кислотой влияла на транспорт и метаболизм углеводов в розах, повышала содержание калия в листьях и в стеблях растений (на 34%) и содержание моносахаридов в листьях (на 70%) относительно контрольного варианта, а при сбалансированном уровне питания − в корнях на 70% .
- 4. Некорневая обработка роз борной кислотой положительно влияет на пассивный иммунитет растений, в соответствии с теорией Комеса, подкисляя клеточный сок, о чем свидетельствует увеличение содержания суммы органических кислот в 7-20 раз.
- 5. Обработка листьев борной кислотой в концентрации 1,2 г/л и 3,1 г/л существенно снижала активность полифенолоксидазы в листьях и повышала в корнях роз относительно контрольного варианта, что свидетельствует о возможности регулирования работы полифенолоксидазной системы через проведение некорневых подкормок данным препаратом.
- 6. Некорневая обработка раствором салициловой кислоты в концентрации 2 мМ/л поддерживает работу антиоксидантной системы растений, приводя к увеличению содержания меди и активности аскорбатоксидазы в листьях роз более чем в 2 раза.
- 7. Некорневые обработки борной кислотой в концентрации 3,1 и 6,1 г/ л оказали наибольшее влияние на показатели, обеспечивающие устойчивость роз в условиях защищенного грунта.

Список публикаций по теме диссертационной работы

1. Суворова Е. Е. Физиолого-биохимическое значение бора, железа и меди в питании роз и устойчивости их к фитопатогенам в условиях защищенного грунта Материалы Международной конференции «Биология – наука XXI век». Ред. Р.Г. Василов. – М.: МАКС Пресс, 2012. – 1125 с.

2**. Е.Б. Пашкевич, Е. Е. Суворова, В. А. Жданова. Розы в теплицах. Влияние салициловой и борной кислот на растения при сбалансированном минеральном питании // Цветоводство . – 2012, № 4. – С. 2.**

3. **Н. В. Верховцева Е.Б. Пашкевич, Е. Е. Суворова Физиолого-биохимические функции бора в растении // Агрохимия. − 2011. − № 11. С. 85-96**

4. **Е.Б. Пашкевич, Е. П. Кирюшин, Е. Е. Суворова Влияние силикатных бактерий и диатомита на питание роз в защищенном грунте // Проблемы агрохимии и экологии. − 2010. − № 3. С. 13-18**

5. Суворова Е. Е. Физиолого-биохимическое значение бора в питании роз и устойчивости к фитопатогенам в условиях защищенного грунта Материалы XX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2013». – М.: МАКС Пресс, 2013. – 252 с.

6. **Е. Е. Суворова, Е.Б. Пашкевич, Е. А. Сидорова. Определение оптимального и токсичного содержания бора в листьях роз в защищенном грунте // Проблемы агрохимии и экологии. − 2013. − № 3. С. 12-15**