На правах рукописи

Пашкевич Елена Борисовна

ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И БИОПРЕПАРАТОВ ПРИ ОПТИМИЗАЦИИ ПИТАНИЯ РОЗ В УСЛОВИЯХ ЗАЩИЩЕННОГО ГРУНТА

Специальность 06.01.04 – агрохимия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора 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 консультант: **Верховцева Надежда Владимировна,**
доктор биологических наук, профессор кафедры агрохимии и биохимии растений факультета почвоведения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Официальные оппоненты: **Шабаев Валерий Павлович**,
доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской Академии наук, ведущий научный сотрудник

Битюцкий Николай Петрович,
доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный университет, профессор с возложенными обязанностями заведующего кафедры агрохимии биологического факультета

Новиков Николай Николаевич,
доктор биологических наук, Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», профессор кафедры агрономической, биологической химии, радиологии и безопасности жизнедеятельности

Ведущая организация: Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИЦ и СК Россельхозакадемии, г. Сочи)

Защита диссертации состоится «7» апреля 2015 г. в 15 ч. 30 мин. в аудитории М-2 на заседании диссертационного совета Д 501.002.13 при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, факультет почвоведения.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова и на сайте http://soil.msu.ru/zashchita-dissertatsii/350-uchenyj-sovet1/2011-pashkevich

Автореферат разослан «_____»_____2015 г.

Приглашаем Вас принять участие в обсуждении диссертации на заседании Диссертационного совета. Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью, просим присылать по вышеуказанному адресу.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 501.002.13,
доктор биологических наук, профессор Зенова Зенова Галина Михайловна

Актуальность проблемы. Из-за особенностей климата на большей территории России, промышленное производство декоративных растений возможно только в условиях защищенного грунта. При этом на всем протяжении процесса вегетации растения подвержены негативному воздействию стрессовых факторов различной природы, что приводит к снижению продуктивности за счет ингибирования роста и фотосинтеза. Изучение путей повышения устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды относится к числу приоритетных направлений современной агрохимии и физиологии растений.

Традиционно используемые в теплицах грунты (торф, смешанный с каким-либо наполнителем, как правило, с агроперлитом) существенно отличаются от почв естественных агроценозов, особенно процессами, связанными с мобилизацией и иммобилизацией питательных элементов. Нарушение баланса в питании приводит к ослаблению иммунитета растений и, как следствие, к заметному снижению качества и количества товарной продукции из-за высокого уровня заболеваемости в совокупности с общей низкой стрессоустойчивостью декоративных культур.

Современная технология выращивания декоративных растений в условиях защищенного грунта включает обязательные приемы, которые обеспечивают их защиту от болезней, особенно вызванных патогенными микромицетами. В последнее время стало активно разрабатываться новое направление по созданию препаратов, применение которых в корне отличается от классических фунгицидов – биопрепаратов, а также антистрессовых естественных соединений, применение которых не только уничтожает источник инфекции, но и снижает их негативное действие и укрепляет иммунные свойства растений, создавая активный и повышая пассивный иммунитет. Использование таких препаратов характеризуется рядом преимуществ перед традиционными химическими средствами (фунгицидами). Это связано с биологической безопасностью, системным и продолжительным иммуномодулирующим действием, с формированием большого количества защитных систем у растений, не позволяющих адаптироваться патогенам.

Использование механизмов повышения иммунитета самих растений является реальной и безвредной альтернативой применения фунгицидов. В отличие от человека, пассивную иммунизацию растений проводят химическими соединениями (абиотическими индукторами), запускающими синтез неспецифических факторов защиты. Устойчивость растений можно повысить разными приемами, в том числе и внесением микроудобрений (Иммунитет растений, 2005). Такими микроэлементами, растворы которых обладают дезинфицирующими свойствами, предшественниками фитогормонов или укрепляющими покровы растения (механический иммунитет), являются соединения бора, меди, цинка и кремния, а также, фитогормональное соединение – салициловая кислота.

Важнейший показатель, который влияет на пассивный иммунитет растений – уровень минерального питания. Низкое содержание в грунтах подвижных форм фосфора, калия и микроэлементов, что связано с их иммобилизацией в грунте, т.е. закреплением в органоминеральных комплексах – одна из острых проблем в теплицах (Инишева, 1998).

Создание активного иммунитета путем внесения в систему грунт-растение биотических индукторов – наиболее перспективный путь создания «здоровой» среды обитания растений. Это может быть интродукция микроорганизмов-супрессоров, затрудняющих развитие фитопатогенных форм микроорганизмов или обработка грунтов и растений биопрепаратами с селективно-биоцидным действием.

Эти вопросы следует отнести к числу наиболее актуальных и пока недостаточно разработанных проблем современного декоративного цветоводства.

Цель работы – разработать методологические принципы оптимизации питания роз экологически безопасными приемами для увеличения устойчивости растений к фитопатогенным микромицетам в условиях защищенного грунта.

Задачи исследований:

– Разработать пути повышения естественного иммунитета роз фолиарным внесением микроэлементов (бор, цинк, медь) и раствора салициловой кислоты, т.е. антистрессовыми соединениями. Определить содержание этих элементов, а также макроэлементов во всех вегетативных органах растений и их водорастворимых форм в грунтах;

– Выделить из природных объектов микроорганизмы, обладающие заданными свойствами (силикатной, азотфиксирующей, хитиназной, фосфатазной активностью), как основу для бактериальных препаратов, альтернативных фунгицидам, созданных на основе химического синтеза;

– Создать систему оптимального минерального питания роз за счет процессов мобилизации питательных элементов в грунтах, способствующую повышению их естественного иммунитета, корневым внесением бактериальных препаратов и кремнийсодержащего удобрения (диатомита);

– Определить изменение состава и структуры микробоценоза при совместном внесении в грунт бактериальных препаратов и диатомита и его влияние на мобилизацию питательных элементов;

– Изучить действие и последействие фолиарной обработки листьев роз бациллярными препаратами на содержание в растениях макроэлементов, изменение микробиологического сообщества в грунтах, эпифитных и эндофитных микроорганизмов;

– Оценить влияние биотических и абиотических индукторов на биомассу, длину и цветение растений, уровень поражения их патогенными микромицетами.

– Определить в растениях активность антиоксидантных ферментов (каталазы, полифенолоксидазы, аскорбатоксидазы), а также сумму органических кислот и показатели углеводно-белкового обмена, как биохимических факторов устойчивости растений;
– Исследовать способность к укоренению черенков роз с применением бактериального препарата и индолимасляной кислоты при выращивании в грунтах с разным содержанием органического вещества.

Научная новизна. Впервые выделены из природных объектов культуры силикатных почвенных бактерий (*Bacillus macerans*, два штамма *Bacillus circulans* и ассоциацию – *Bacillus* sp**.** + *Corynebacterium* sp.), обладающих не только фунгицидным действием, но и силикатной активностью, которые повышали эффективность выращивания роз в защищенном грунте. Показано, что выделенные культуры способны к мобилизации труднорастворимых форм калия, кремния и фосфора в тепличном грунте торф:перлит, что обеспечило улучшение питательного режима роз, и, как следствие, морфометрических показателей растений. Установлен биоцидный эффект бактериальных препаратов в отношении микромицет, поражающих розы в защищенном грунте. Доказан факт увеличения общей численности микроорганизмов и перестройки микробного сообщества в тепличном грунте при обработке его бактериальными препаратами с вытеснением фитопатогенного комплекса интродуцированными культурами.

Впервые разработаны методологические принципы (дозы, сроки и способы внесения) улучшения физиолого-биохимического состояния роз и агробиологического статуса грунтов экологически безопасными методами (биотическими и абиотическими индукторами) в условиях защищенного грунта.

Впервые проведено изучение укоренения черенков роз в герметично закрывающихся пакетах с наполнителем, состоящим из смеси заправленного торфа с агроперлитом в объемном соотношении 1:3. Исследовано поглощение основных питательных элементов (азота, фосфора и калия) растениями на первых этапах укоренения. Показано, что высокие концентрации основных биогенных элементов в соответствии с градациями обеспеченности (нитратов − 210 мг/100 г и подвижных форм фосфора − 54 мг/100 г) и органического вещества (50%) в грунте не оказывают отрицательного влияния на процесс ризогенеза. Изучена устойчивость черенков к фитопатогенным микроорганизмам, а также микробиологические процессы в грунте, происходящие при данном способе укоренения.

Практическая значимость. Полученные и апробированные результаты могут быть рекомендованы всем тепличным хозяйствам по улучшению черенкования и питания роз, а также защиты их от фитопатогенов экологически безопасными методами. Разработанные биопрепараты могут быть использованы не только в защищенных грунтах, но и открытых, для улучшения питания декоративных растений.

Даны рекомендации по дозам и способу применения микроэлементов (бор, медь, цинк) и салициловой кислоты при выращивании роз в защищенном грунте.

На основе проведенной работы разработаны инструкции по укоренению черенков роз в герметично закрывающихся пакетах, способам внесения и дозам микроэлементов для фолиарной обработки растений Ульяновскому совхозу декоративного садоводства, получен акт о внедрении результатов исследований.

Основные защищаемые положения диссертационной работы:

1. Доказано на основе визуальных признаков и физиолого-биохимических характеристик, что пятикратная фолиарная обработка роз один раз в две недели бором или смесью микроэлементов (бор, цинк и медь) в двойной дозе относительно концентрации этих микроэлементов в общепринятой смеси Хогланда, увеличивает их устойчивость к фитопатогенным микромицетам в условиях защищенного грунта.
2. Показано, что при фолиарной обработке микроэлементами роз в условиях термического стресса, в растениях происходит накопление меди и цинка в листе. В период вегетации с оптимальной температурой эти микроэлементы концентрируются в корнях растения. При дефиците в растении цинка, после пятикратной фолиарной обработки роз бором, концентрация этого элемента в растении значимо повышается, что улучшает микроэлементный статус роз.
3. Доказано, что на биомассу формирующихся корней влияет тип корневой системы роз, содержание доступного минерального азота в грунте, а также корневое внесение выделенных из природных объектов бактериальных культур с силикатной, азотфиксирующей, хитиназной и фосфатазной активностью.
4. Доказано, что пятикратная фолиарная обработка роз суспензией выделенных из природных объектов микроорганизмов, обладающих хитиназной активностью, уменьшает количество патогенных эпифитных и эндофитных микромицетов в листьях растений, в грунтах под ними и в воздухе в несколько раз, что приводит к «оздоровлению» грунтов и воздуха в теплице.
5. Доказано и впервые рекомендовано совместное внесение в тепличный грунт кремнийсодержащего удобрения диатомита и бактериальных препаратов, что увеличивает содержание в растениях азота, фосфора, калия и кремния, улучшает углеродно-белковый обмен, создает активный и увеличивает пассивный иммунитет растений.

Апробация работы:

Материалы, вошедшие в диссертацию, были доложены и обсуждены устными или постерными докладами на российских и международных конференциях и симпозиумах: 15 th World fertilizes congress of the international scientific centre for fertilizes (CIEC), 29 August – 2 September 2010, Bucharest,

Romania; I Всероссийской научно-практическая конференции с международным участием «Фундаментальные достижения в почвоведении, экологии, сельском хозяйстве на пути к инновациям», г. Москва, 23-25 апреля 2008 г.; Международная научно-практическая конференция «Приемы повышения плодородия почв и эффективности удобрений», Беларусь, г. Горки, 6-7 июня 2007; Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы иммунитета и защиты сельскохозяйственных культур от болезней и вредителей», г. Одесса, 11-14 сентября 2007; научно-практическая конференция: «Фундаментальные достижения в почвоведении, экологии, сельском хозяйстве на пути к инновациям: I Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием», г. Москва, МГУ, 2008 г.; участие в финальном туре конкурса инновационных проектов МГУ имени М.В.Ломоносова в 2010 году; на заседаниях кафедры агрохимии и биохимии растений факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова

Публикации. Основные материалы диссертации опубликованы в 24 печатных работах, в том числе в 13 экспериментальных и обзорных статьях в реферируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов докторских диссертаций.

Личный вклад автора. Автором определены цель и задачи, разработана программа исследований. Значительная часть работ по сбору экспериментального материала и его лабораторному анализу, математической обработке цифрового материала, а также работа по обобщению и интерпретации полученных результатов, написанию текста диссертации, формулировке основных защищаемых положений и научных выводов выполнена автором самостоятельно. На определенных этапах исследования проводились совместно с аспирантами: О.В. Сухой (2004-2005 гг.), Е.Л. Нейматовым (2008-2010 гг.), Е.П. Кирюшиным (2008-2010 гг.) и Е.Е. Суворовой (2011-2012 гг.). Доля участия автора в подготовке публикаций работ в соавторстве составляет 50–90 %.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 292 страницах, содержит 66 таблиц и 32 рисунка. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), программы и методов исследования (глава 2), экспериментальной части и обсуждения результатов исследований (5 глав), выводов, списка литературы из 435 источников, в том числе 167 на иностранных языках, приложений.

Место проведения работы. Основную часть экспериментальной работы проводили на базе Ульяновского совхоза декоративного садоводства, филиала ГУП «Мосзеленхоз» (Московская область), цех № 1, теплицы № 101 и № 104 в условиях защищенного грунта и на кафедре агрохимии и биохимии растений факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова с 2004-2012 гг.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность и благодарность всем коллегам – соавторам публикаций, принимавшим

участие в представленной работе на различных этапах ее выполнения, А.И. Фитисову и А.Г. Андрееву, директору и главному агроному Ульяновского совхоза декоративного садоводства за предоставленную возможность выполнить исследовательскую часть работы, сотрудникам кафедры агрохимии и биохимии растений за ряд ценных замечаний и пожеланий. Особую благодарность автор выражает научному консультанту – д.б.н., профессору Надежде Владимировне Верховцевой за искреннюю помощь и поддержку во время выполнения работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы. В приведенном обзоре литературы обобщены результаты исследований устойчивости растений к заболеваниям и возможности ее повышения изменением минерального питания – это сложная область исследований фитосистем, лежащая на стыке наук агрохимии, физиологии, биохимии растений и микробиологии. В главе раскрыто понятие активного (непосредственное поражение возбудителя инфекции) и пассивного (препятствие внедрение патогена и развития его в тканях растения-хозяина) иммунитета у растений, природные факторы их устойчивости к заболеваниям, описаны заболевания роз, вызванные микромицетами. Значительная часть главы посвящена роли макроэлементов, микроэлементов (бора, меди, цинка и кремния), а также салициловой кислоты в создании естественного иммунитета при проведении определенных агрохимических приемов.

Глава 2. Объекты, программа и методы исследования

Объекты исследования. Для решения поставленных задач в период с 2004 по 2012 гг. в весенне-летний период было проведено 12 серий экспериментальных работ (производственные, вегетационные и модельный опыты) в условиях защищенного грунта.

Из более 50 сортов роз, выращиваемых совхозом «Ульяновский», для наших исследований были отобраны четыре, все французской селекции фирмы Meilland. Это два сорта шрабовых (спрей) роз – Mimi Eden и Flash night и два сорта чайно-гибридных роз – Lovely Red и Dynastie Piccard.

Самым неустойчивым к микромицетной инфекции был сорт Mimi Eden (по данным компании Meilland). Листья этого растения использовали для выделения экзо- и эндомикробоценоза. Затем тестировали на этом сообществе микроорганизмов действие фунгицидов, применяемых в теплице (Глава 6).

Сорт Flash night использовали в опытах с внесением в торфогрунт диатомита и бактериальных препаратов (опыты №6, 8 и 9), он самый устойчивый к заражению из отобранных сортов, но зимой его листья истончаются, цветы становятся мельче и кусты ниже, что приводит к вспышке заболеваний в условиях защищенного грунта.

Сорт Lovely Red, как все чайно-гибридные сорта, малоустойчив к инфекциям, на растениях этого сорта хорошо видно положительное действие фолиарной и корневой обработки растений различными индукторами (опыты №1-5, 10). Кроме того, при выборе имело значение, что сорт Lovely Red – один из пяти лидеров продаж в совхозе «Ульяновский».

Сорт Dynastie Piccard использовали в опытах №11 и №12 (для разработки метода укоренения), так как он считается самым плохо укореняемым из всех сортов французской селекции.

В опытах применяли различные виды торфогрунтов, состоящих из торфа промышленного производства (Т) – питательный субстрат из верхового сфагнового торфа низкой степени разложения, избыточная кислотность которого нейтрализована известковой мукой, смешанного с агроперлитом (перлит вспученный) или вермикулитом. В большинстве опытов к нейтральному торфу было добавлено комплексное минеральное удобрение «Кемера-супер» с соотношением N:P:K = 11:24:24 в количестве 1,5 кг/м^3 (фирма «Русский торф»), и агроперлит (П). Агроперлит (Апрелевский завод теплоизделий) характеризовался высокой пористостью (70-90 %), насыпной плотностью 100 кг/м^3, зерновому составу по объему: более 5,0 мм – 5 %, менее 1,25 мм – 8 %. Использовали торфогрунт в объемном соотношении (Т:П) 1:3 и ТП с добавлением диатомита (ТПД), в объемном соотношении ТП:Д=500:1. Содержание подвижных форм питательных веществ в удобрении «Кемира-супер» (мг/100 г на сухое вещество) по данным производителя: аммонийный азот (NH_4) – 135,6; нитратный азот (NO_3) – 26,3; фосфор (P_2O_5) – 291,0; калий (K_2O) – 353,0; кальций (CaO) – 3987,0; магний (MgO) – 452,0; железо (Fe_2O_3) – 70,6.

В опытах № 11 и 12 при определении условий для зеленного черенкования применяли вермикулит вспученный, следующего химического состава: двуокись кремния (SiO_2) – 42%, окись магния (MgO) – 23%, окись железа (Fe_2O_3) – 17%, окись алюминия (Al_2O_3) – 13%, закись железа (FeO) – 3%, вода (H_2O) – 18% (по данным производителя: «Санкт-Петербургская Слюдяная фабрика») в смеси с торфом и агроперлитом (ТПВ). Перед закладкой опытов в грунтах определяли их агрохимические характеристики. Для каждого опыта, кроме опыта № 10, перед его закладкой, смешивали свежий торфогрунт.

Укоренение черенков роз, перед закладкой вегетационных опытов, проводили в герметично закрывающихся полиэтиленовых пакетах с замком ZIP-LOCK размером 35×45 см и толщиной 40 мкм, для чего заранее срезали у взрослых растений исследуемых сортов, растущих в теплице, черенки, длиной 15 см, с 3-4 сложными листьями и косым нижним срезом. В пакеты насыпали грунт массой 0,7 кг и доводили его влажность до 80% ПВ. Затем в пакет помещали черенок и заглубляли его в грунт на 5 см. Пакет закрывали замком ZIP-LOCK, дополнительный полив на протяжении всего срока укоренения не производили (Сухая и др., 2008). Черенки укореняли в течение

28-30 суток. Далее, весь грунт с черенками, которые образовали корни, полностью переносили в вегетационные сосуды (V=1,2 л). Через 56-72 суток выращивания, после завершения эксперимента, растения взвешивали, измеряли длину, разбирали на вегетационные органы (листья, стебли, корни), фиксировали 10 минут при температуре 90° С и высушивали до воздушно-сухого состояния. Далее в растениях определяли содержание элементов питания, белкового азота и углеводов.

Одним из ключевых путей повышения стрессоустойчивости растений является, по-нашему мнению, использование индукторов защитных систем растений, то есть факторов, активизирующих естественные стресс-защитные механизмы растений (Шакирова, 2000).

В качестве абиотических и биотических индукторов защитных механизмов роз были выбраны:

1. Четыре микроудобрения, непосредственно связанные с иммунитетом растений – диатомит, применяемый как кремнийсодержащее удобрение (механическое укрепление клеточной стенки), бор (синтез и структура клеточной стенки, метаболизм фенольных соединений и т. д.), медь и цинк (медь и цинксодержащие ферменты, функционирующие в фотосинтезе и дыхательной цепи) и антистрессовое вещество – салициловая кислота.

Кремний вносили в виде диатомита Инзенского месторождения, растертого до муки (Д), бор в форме борной кислоты, медь и цинк в виде их сульфатных солей. Диатомит – порода осадочного происхождения следующего химического состава: $SiO_{2\ общ.}$ – 83,00%; $SiO_{2\ аморфн.}$ – 42,00%; Al_2O_3 – 5,82%; Fe_2O_3 – 2,47%; FeO – 0,12%; MnO – 0,01%; CaO – 0,52%; MgO – 0,48%; Na_2O – 0,42%; K_2O – 1,25%; P_2O_5 – 0,05%; $SO_{3\ общ.}$ – 0,23% (Капранов, 2010).

2. Четыре бактериальных препарата, из суспензий чистых культур бактерий-антагонистов к микромицетам, выделенных нами из природных объектов: из дерново-подзолистой среднесуглинистой почвы, отобранной на УОПЭЦ МГУ «Чашниково» (культура № 1), из серой лесной супесчаной почвы (культура № 2), с поверхности речного песка (культура № 3), с поверхности песка аэрируемых песколовок Курьяновских очистных сооружений (культура № 4). После серии исследований установлено, что все культуры обладали азотфиксирующей, хитиназной и силикатной активностью. При проведении ряда культуральных и физиолого-биохимических тестов, а также анализа жирно-кислотного состава биомассы чистых культур в систематическом отношении они были определены как: биопрепарат № 1 − *Bacillus macerans* (БП1), биопрепарат № 2 - *Bacillus circulans* штамм 1 (БП2), биопрепарат № 3 – *Bacillus circulans* штамм 2 (БП3), биопрепарат № 4 – *Bacillus* sp. + *Corynebacterium* sp. (БП4). В работе применяли суспензии чистых культур этих микроорганизмов с концентрацией 10^6 КОЕ/мл, проводя смыв колоний этих культур с поверхности твердой среды в чашках Петри стерильным физраствором и разбавляя стерильной дистиллированной водой до нужной концентрации.

Все выбранные индукторы (кроме кремния) вносили в торфогрунт или фолиарно через каждые две недели.

Программа исследований. Программа исследований включала четыре направления:

1. Изучение возможности повышения пассивного иммунитета путем оптимизации микроэлементного статуса фолиарными обработками абиотическими или одновременным применением биотических и абиотических индукторов;
2. Исследование действия кремнийсодержащего удобрения и бактериальных препаратов, внесенных в торфогрунт;
3. Определение эффективности фолиарной обработки бактериальными препаратами в регулировании минерального питания роз;
4. Исследование способности к укоренению черенков роз при применении бактериального препарата и индолилмасляной кислоты при выращивании в грунтах с разным содержанием органического вещества.

Направление 1. В рамках направления была проведена серия вегетационных опытов (2008-2012 гг.). Грунт – ТП, в объемном соотношении 1:3, сорт роз – Lovely Red. В опытах применяли пятикратную фолиарную обработку растений микроудобрениями и салициловой кислотой до полного смачивания (Harr, Sinha, 1986; Мельникова, 1988), контрольный вариант – таким же объемом дистиллированной воды. Первый раз – в день после пересадки черенков в сосуды, затем через каждые две недели.

Одновременно с обработками в каждый сосуд в торфогрунт вносили по 100 мл смеси Кнопа, содержащей (г/л): $Ca(NO_3)_2$ – 1,0; $MgSO_4$ – 0,25; KH_2PO_4 – 0,25; KNO_3 – 0,25; $FeSO_4$ – 0,05 (Практикум по агрохимии, 2001).

Дозы вносимых микроэлементов соответствовали рекомендуемым в смеси микроэлементов Хогланда (Практикум по агрохимии, 2001): H_3BO_3 – 0,611, $CuSO_4$ и $ZnSO_4$ – 0,056 мг/л (опыт №1) и двойным дозам этих элементов (опыты №2-5), салициловой кислоты – 2мМ/л. Повторность каждого варианта опыта – десятикратная (табл. 1-3). В опыте №5 – одновременно с фолиарной обработкой растений абиогенными индукторами в торфогрунт вносили по 50 мл суспензии чистой культуры *Bacillus macerans* (БП1).

Таблица 1. Схемы опытов №1-3

Варианты опыта	Фолиарная обработка роз
1. Контроль	Дистиллированной водой
2. B	Раствором борной кислоты
3. Cu	Раствором сернокислой меди
4. Zn	Раствором сернокислого цинка
5. ∑	Раствором смеси борной кислоты, сернокислой меди и цинка
6. С/К	Раствором салициловой кислоты (только в опыте №3)

Таблица 2. Схема опыта №4

Варианты опыта	Фолиарная обработка роз
1. Контроль	Дистиллированной водой
2. В	Раствором борной кислоты
3. С/К	Раствором салициловой кислоты
4. В+С/К	Раствором борной и салициловой кислот
5. Cu	Раствором сульфата меди
6. В + Cu	Раствором борной кислоты и сульфатом меди

Таблица 3. Схема опыта №5

Варианты опыта	Обработка
1. Контроль	Фолиарная обработка дистиллированной водой
2. Контроль+БП1	Внесение бактериального препарата БП1 в торфогрунт
3. В	Фолиарная обработка растений бором
4. В+БП1	Внесение бактериального препарата БП1 в торфогрунт и фолиарная обработка растений бором
5. С/К	Фолиарная обработка растений салициловой кислотой
6. С/К+БП1	Фолиарная обработка растений салициловой кислотой и внесение биопрепарата в торфогрунт

Направление 2. В теплице №1 совхоза Ульяновский были выделены делянки на грядах и на них наложены опытные варианты проводимых исследований **(опыт № 6,** 2008 г**).** Схема опыта включала 10 вариантов, 2 контрольных, и 8 вариантов с обработкой фонов каждым из четырех бактериальных препаратов с диатомитом и без него (табл. 4). Укорененные черенки сорта Flash night (высотой 3-4 см) высаживали в гряды из грунта ТП. К каждому черенку была проведена система капельного полива. Опыт был заложен с учетом полной рандомизации. Размер делянок составлял 100×40 см, каждый вариант включал 5 делянок, в каждой делянке размещалось 8 растений. Таким образом, каждый вариант опыта включал 40 растений для их анализа и 5 повторностей для анализа грунта. Перед посадкой укорененных черенков на вариантах с внесением диатомита, кремнийсодержащее удобрение вносили в лунку для посадки растений в количестве 2 г на один черенок. За 56 суток проведения опыта было проведено четыре корневых обработок бактериальными препаратами по 50 мл на растение: в момент закладки опыта и далее через каждые 14 суток от начала опыта. Отбор образцов листьев и грунтов на анализы и измерение высоты растений проводили через 7, 14, 28 и 56 суток после закладки опыта.

Для уточнения структуры микробного сообщества грунтов и мониторинга ее изменения под действием биопрепаратов был проведен **модельный опыт № 7** (2008 г.). Опыт был заложен без растений в сосудах объемом 250 мл. Торфогрунт ТП и ТПД (в соотношении ТП:Д 500:1) был помещен в химически чистые пластиковые контейнеры, обработан суспензией бактериальных препаратов 4 раза через каждые две недели (50 мл

суспензии на сосуд), фоновые варианты были политы тем же объемом дистиллированной воды. Увлажненные контейнеры поместили в Zip-Lock пакеты, размером 35×45 см, затем пакеты закрыли и выдержали при температуре 20-25 ^{0} С. Схема опыта включала 10 вариантов в трех повторностях, 2 контрольных (фоновых) – ТП и ТПД, и 8 вариантов с обработкой фонов каждым из четырех бактериальных препаратов и этими же биопрепаратами при внесении в грунт диатомита (табл. 4). Содержание водорастворимых форм калия, фосфора и кремния, и численность бактерий, выросших на силикатной среде, определяли через 7, 14, 28 и 56 суток после обработки бактериальными препаратами. Варианты были размещены рандомизированным методом. Все варианты опыта периодически увлажнялись водопроводной водой (60-70% ПВ).

Таблица 4. Схема опытов №6-9 (в опыте №8 отсутствуют варианты:ТП1, ТП2, ТП3 и ТП4)

Варианты опыта	Внесение в торфогрунт
1.ТП	Контроль без внесения
2.ТП+Д (ТПД)	Контроль и диатомита
3.ТП+БП1 (ТП1)	Бактериальный препарат БП1
4.ТП+Д+БП1 (ТПД1)	Диатомит и бактериальный препарат БП1
5.ТП+БП2 (ТП2)	Бактериальный препарат БП2
6.ТП+Д+БП2 (ТПД2)	Диатомит и бактериальный препарат БП2
7.ТП+БП3 (ТП3)	Бактериальный препарат БП3
8.ТП+Д+БП3 (ТПД3)	Диатомит и бактериальный препарат БП3
9.ТП+БП4 (ТП4)	Бактериальный препарат БП4
10.ТП+Д+БП4 (ТПД4)	Диатомит и бактериальный препарат БП4

Для того, чтобы исключить внесение в торфогрунт дополнительного минерального питания через капельный полив, которое подавалось автоматически, определить массу корней после окончания опыта и отследить процессы, проходящие в стеблях, цветах и корнях растений во время вегетации проведены вегетационные **опыты № 8 и № 9** (2009 и 2010 гг.). Количество обработок биопрепаратами грунтов в вегетационных опытах – четырехкратная, через каждые две недели, в количестве 50 мл, с концентрацией чистой культуры в суспензии – 10^6 КОЕ/мл. Два грамма доломита вносили в грунт каждого сосуда перед пересадкой в них укорененного черенка сорта Flash night. Каждый вариант состоял из 10

повторностей. Схема опыта №8 включала 6 вариантов: контроль без внесения диатомита – ТП; торфогрунт с диатомитом – ТПД и 4 варианта – торфоргунт с диатомитом и четыре бактериальных препарата. Схема опыта №9 включала 10 вариантов, 2 контрольных (фоновых) – ТП и ТПД, и 8 вариантов с обработкой фонов каждым из четырех бактериальных препаратов и этими же биопрепаратами при внесении в торфогрунт диатомита (табл. 4).

Направление 3. Для определения эффективности фолиарной обработки растений БП1 в регулировании минерального питания, определения устойчивости роз к фитопатогенам и для рассмотрения изменений эпифитного и эндофитного микробного сообщества листьев и микробоценоза торфогрунтов был проведен **опыт №10.** Сорт роз Lovely Red. Опыт провели на 4-х летних растениях, растущих в грунте ТП в объемном соотношении 1:3. Каждое растение в отдельном сосуде, где все сосуды были подключены к централизованной системе капельного полива. Питательный раствор подавался 5 раз в день. Состав питательного раствора по данным совхоза «Ульяновский» (мг/л): pH – 5-6; $N\text{-}NH_4$ – 42,0; $N\text{-}NO_3$ – 114,0; P – 40,0; K – 213,0; Ca – 85,0; Mg – 32,0; S – 44,0; Fe – 2,0; B – 0,18. Опыт, заложенный методом полной рандомизации, состоят из двух вариантов в пяти повторностях: К – контроль, опрыскивание каждой повторности водопроводной водой до полного смачивания растений; БП1 – все растения фолиарно обрабатывались суспензией *Bacillus macerans*, также до полного смачивания. Обработку растений проводили раз в две недели, всего было проведено пять обработок. Каждый вариант опыта состоял из 120 растений (по 24 растения на повторность, размер каждой делянки 20 $м^2$). Всего опыт занимал 20 % площади теплицы. Для микробиологического анализа отбор образцов листьев (верхний пятый лист) и грунтов, провели накануне первой обработки (отбор 1), через две недели после первой обработки (отбор 2) и после последней обработки (отбор 3). Отбор осуществляли стерильно. Через девять месяцев с этих же вариантов были отобраны образцы листьев растений и грунтов для определения численности микроорганизмов, при этом обработка бактериальным препаратом не проводилась. На всем протяжении опыта определяли содержание в воздухе теплицы микроорганизмов по Омелянскому (Аникеева, Лукомская, 1983), с использованием Питательного агара и среды Чапека-Докса (фирма Himedia, Индия). Каждый год перед началом опыта и на момент отбора образцов проводили агрохимический анализ грунтов.

Направление 4. Для исследования способности к укоренению черенков роз при применении бактериального препарата и индолилмасляной кислоты (ИМК) на торфогрунтах с разным содержанием органического вещества были проведены вегетационные опыты **№11** (табл. 5) **и №12** (табл. 6) (2005 и 2006 гг., соответственно). Сорт роз – Dynastie Piccard. На основании полученных результатов все черенки для экспериментальной работы были укорены по разработанной в этом опыте методике. Применяли биопрепарат, который представлял собой суспензию чистой

культуры *Alcaligenes* sp. (БП), в концентрации 10^7 КОЕ/мл (материал для укоренения в течение 24 часов замачивали в суспензии, содержащей микроорганизмы) и регулятора корнеобразования индолилмасляную кислоту (ИМК), в концентрации 0,25% фирмы Alfa Aesar – обработка нижнего среза черенков роз сухим препаратом (опудривание) перед углублением в питательный субстрат. Чистая культура *Alcaligenes* sp. была выделена ранее из каныги коровы и применялась из-за ее высокой хитиназной активности. Для укоренения в опытах были использованы два грунта, состоящие из торфа, агроперлита и вспученного вермикулита (ТПВ), в объёмном соотношении 5:4:1 и из торфа и агроперлита (ТП), в объемном соотношении 1:3. Длительность опытов – 30 суток. Повторность опытов – четырехкратная.

Таблица 5. Схема вегетационного опыта № 11

Варианты опыта	Обработки
1.Контроль	Черенки без обработки
2. Обработка ИМК	Срез черенка перед укоренением опудрен ИМК
3.Обработка БП	Черенки обработаны бактериальным препаратом
4.Обработка БП+ИМК	Черенки обработаны бактериальным препаратом и ИМК

Таблица 6. Схема вегетационного опыта №12

Варианты опыта	Обработки
1.Контроль	Грунт ТПВ с необработанными черенками (контрольный вариант относительно обработанных черенков)
2.ТПВ+БП+ИМК	Грунт ТПВ с черенками, обработанными бактериальным препаратом и опудрен ИМК
3.ТП	Грунт ТП с черенками (контрольный вариант относительно обработанных черенков)
4.ТП+БП+ИМК	Грунт ТП с черенками, обработанными бактериальным препаратом и опудрен ИМК

Методы исследования. Агрохимические характеристики грунтов определяли общепринятыми методами при соотношении грунт : вода = 1:10 (Практикум по агрохимии, 2001; Методические указания по анализам …, 1986). Содержание общего азота, фосфора и калия в корнях, листьях и стеблях растений – после мокрого озоления по Гинзбург в концентрированной серной кислоте с добавлением конц. хлорной кислоты в качестве катализатора: $N_{общ.}$ – методом Кьельдаля, K_2O – на пламенном фотометре Flama FP 640, Финляндия, P_2O_5 – колориметрически по Дениже на фотометре КФК-3-01 «ЗОМЗ», Россия. Белковый азот, после осаждения белка и мокрого озоления фильтра в концентрированной серной кислоте с добавлением конц. хлорной кислоты в качестве катализатора – методом Кьельдаля, углеводы – фотометрически с пикриновой кислотой. Содержание

кремния в грунте и в растениях после мокрого озоления в серной кислоте определяли по модифицированной методике фотометрически по окрашенному комплексу синей кремнемолибденовой гетерополикислоты с аскорбиновой кислотой в качестве восстановителя (Кирюшин и др., 2009). Бор, медь и цинк – после сухого озоления в кварцевых чашках (при озолении растительного материала для определения бора в каждую чашку добавляли 0,1 г CaO) и растворения золы 10 % HCL. Медь и цинк в грунтах и растениях определяли атомно-адсорбционным методом на приборе AAS 30, Германия, бор – модифицированным методом колориметрически с кармином (Пашкевич, Слюсаревский, 2009).

Активность каталазы и сумму органических кислот – титрометрически (Плешков, 1987), активность аскорбатоксидазы и полифенолоксидазы – фотометрически (Физиологические и биохимические методы …, 2000).

Микробиологические методы исследования. Для микробиологических исследований грунтов, растений, воздуха и культивирования необходимого количества культур микроорганизмов для обработок растений и торфогрунтов использовали следующие среды: для определения численности микромицетов – среду Czapek Dox Agar (среда Чапека-Докса), для контроля сапротрофных аммонификаторов и приготовления необходимого количества бактериальных препаратов – Nutrient Agar (Питательный агар), для выращивания азотфиксаторов – Azotobacter Agar (среда Эшби). Все среды производства фирмы Himedia, Индия. Плотную питательную среду для силикатных бактерий, куда в качестве источника силиката калия вносили нефелин, и среду для проверки хитиназной активности используемых бактерий проводили на среде, где в качестве органического вещества был добавлен хитин, готовили самостоятельно в соответствии с прописью (Практикум по микробиологии …, 2005).

Бактерии и микромицеты идентифицировали по культуральным свойствам, микроскопическому анализу, физиолого-биохимическим тестам и на основании липидных маркеров на масс-спектрометре Microbial Identification System (MIDI.Inc., Newark, Del., Sherlock).

Для определения чувствительности выделенных микроорганизмов к фунгицидам использовали метод дисков. О чувствительности возбудителя к фунгициду судили по зоне просветления (отсутствия роста) вокруг дисков, сравнивая с контролем, где диски не были пропитаны раствором фунгицида.

Состав (реконструирование) микробного сообщества грунта и растений определяли по микробным маркерам молекулярным методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС). Анализ проводили на ГХ-МС системы HP-5973 Аджилент технолоджис (США). Метод позволяет по химическим компонентам жирно-кислотного состава клеточных мембран, альдегидам и оксикислотам бактерий и микроскопических грибов и математическому соотнесению их с имеющимся банком данных по этим

показателям определить численность, состав и структуру сообщества микроорганизмов (Осипов, 1993; Верховцева, Осипов, 2008).

Для определения количества летучих жирных кислот (ЛЖК) при анаэробном метаболизме микроорганизмов грунта применяли флаконы с селективной питательной средой Bactec Plas Anaerobic/F, США и анализ ЛЖК на газовом хроматографе Кристалл-5000, Россия.

Выделение чистых культур возбудителей микромицетных заболеваний в теплице, их идентификация. Получение чистых культур супрессоров (от *латинского supprimo, suppressum – давить, подавлять)* **к фитопатогенам. Микробиологический анализ чистоты воздуха в теплицах.** Объектом исследования для выделения чистых культур фитопатогенных микромицетов были инфицированные листья боковых побегов и бутонов растений с серым нежным воздушным мицелием (с видимыми проявлениями микромицетного поражения, по внешнему виду очень похожему на мучнистую росу роз) и здоровых растений (без видимых признаков микромицетного поражения) роз сорта Mimi Eden (теплица № 104 и № 107, цех №1**)**.

Для исследования грибковой обсеменности листьев проводили посев штрихом соскоба стерильной петлей на среду Чапека-Докса и Питательный агар в чашки Петри в двукратной повторности. Далее, с чашек, путем последовательных пересевов, выделяли чистые культуры микромицетов. Таксономическую принадлежность проводили на Microbial Identification System (MIDI. Inc., Newark, Del., Sherlock, USA).

Микроскопический анализ чистых культур (благодарим за консультацию в этом исследовании д.б.н. О.Е. Марфенину) показал, что три вида эпифитных грибов можно отнести к доминирующим. Кроме микроскопического анализа провели масс-спектрометрический анализ на масс-спектрометре Microbial Identification System (Sherlock). Они были идентифицированы как *Cladosporium castellani*, *Exophiala* sp. и *Penicillium* sp. Сравнительный анализ посевов с листьев больных и здоровых растений позволил заключить, что заболеванию сопутствуют три вида микромицетов, а на здоровых могут присутствовать как один вид *Cladosporium castellani* , так и два вида *Cladosporium castellani* и *Penicillium* sp. На больных растениях обязательно присутствует *Exophiala* sp. Таким образом, для развития фитозаболевания необходимо присутствие устойчивого патокомплекса, состоящего из трех родов микромицетов. Данные патогенные грибы не являются, по классификации, найденной в литературе, возбудителями какого-либо фитозаболевания, поэтому в дальнейшей работе было использовано определение: инфицирование растений микромицетами.

Для оценки санитарно-эпидемического состояния воздуха в теплице и выделения фитопатогенов был использован седиментационный метод Омелянского (Нетрусов, 2005).

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

Глава 3. Оптимизация микроэлементного статуса роз и применение салициловой кислоты, как фактора их устойчивости к микромицетному инфицированию

В предварительных опытах проводили одно и двукратную фолиарную обработку растений бором, медью и цинком одинарной дозой этих элементов по смеси Хогланда. Анализ растений показал, что концентрация изучаемых элементов в листьях растений практически не менялась. В дальнейшем, все приведенные ниже вегетационные опыты фолиарно обрабатывали пять раз, с шагом в 14 суток.

При фолиарной обработке растений борной кислотой и смесью изучаемых микроэлементов в опытах №1 и №2, визуально признаки микромицетного заражения не отмечались, тогда как на других вариантах опыта поражение растений составляло 25 – 33 % от общего числа растений (табл. 7). Известный и постоянно используемый как дезинфектор медный купорос, в применяемых нами дозах, не оказывал фунгицидного действия на поражаемость растений фитопатогенами. При внесении двойной дозы борной кислоты (опыты №2-5) растения перестали образовывать бутоны и цветы, что не наблюдалось на варианте с совместным применением микроэлементов и при обработке растений одинарной дозой этого вещества (опыт №1). Это связано со снижением полифенолоксидазной активности, что было показано ниже. Известно, что медь как кофактор, входит в состав фермента полифенолоксидаза, в количестве 1-3 % (Кретович, 1971). Кроме того, показано, что снижение активности этого фермента при недостатке меди – одна из причин нарушения цветения растений (Marschner, 1997). Так, при изучении динамики полифенолоксидазной активности по фазам вегетации было показано, что максимальная ее активность проявляется в фазе бутонизации и цветения (Кунаева, 1984). Оптимизация содержания бора в тканях способствует усилению метаболизма фенольных соединений и окислительно-восстановительных процессов через полифенолоксидазную систему (Perkins, 1956), поэтому, дефицит меди вызывает серьезные нарушения в дыхательной цепи из-за недостатка высокоэнергетических соединений и растения перестают цвести. В опытах № 3-5 поражение растений микромицетной инфекцией не было отмечено на всех вариантах опыта, как и во всей теплице, что связано с оптимизацией физических условий роста растений (хорошая аэрация теплицы, невысокая влажность, достаточное освещение и т.д.).

Развитие корневой системы играет важную роль в жизни растений, в ней идет синтез органического вещества, образуются гормоны роста, алкалоиды и т.д., которые затем перемещаются по сосудам ксилемы или остаются в самом корне, как в месте хранения питательных веществ. Фолиарная обработка растений изучаемыми микроэлементами и салициловой кислотой не влияла на их длину, массу надземной части и корней. Однако, одновременная фолиарная обработка роз бором или

салициловой кислотой и корневое внесение БП1 в опыте №5 увеличивало вес корней на этих вариантах в два раза, по сравнению с контролем.

Таблица 7. Количество цветущих и пораженных микромицетной инфекцией растений, % от общего числа роз сорта Lovely Red

Варианты опыта	Опыт №1		Опыт №2		Опыт №3	
	1*	2**	1*	2**	1*	2**
Контроль	15	33	14	29	Нет	Нет
B	15	Нет	Нет	Нет	Нет	
Cu	38	25	29	29	20	
Zn	38	27	20	25	13	
∑	29	Нет	20	Нет	29	
С/К	Нет данных				14	

1* – количество бутонов и цветов, %

2** – количество растений с признаками микромицетного поражения

В грунте до закладки опытов (опыт №2) содержалось очень низкое количество водорастворимого цинка и меди – 3,4 и 0,7 мг/кг, соответственно. Показано, что оптимальное содержание микроэлементов в грунте под розами составляет: бор – 1-3, медь – min 0,5, max 2-10, цинк – min 2, max 10-20 мг/кг, в листьях: бор – 10-30, медь – 8-16, цинк – 10-20 мг/кг (Ноллендорф, 1988). После окончания опыта концентрация этих элементов в грунтах даже увеличилась (цинка до 4-х раз, меди – до 6), это связано с влиянием на применяемый субстрат ризосферных выделений растений и деятельностью автохтонных микроорганизмов, что и привело к высвобождению микроэлементов из связанного с органическим веществом состояния. Так, в модельном опыте № 7, проведенном в сосудах без растений с исследуемым нами грунтом, простое компостирование при регулярном увлажнении в течение 56 суток на контрольном варианте приводило к увеличению водорастворимого калия и фосфора в два раза только за счет жизнедеятельности автохтонной микробиоты грунта. Возможен, также, вынос этих элементов с флоэмным током в качестве ризосферных выделений, если растение не использует их в биосинтезе по каким-нибудь причинам.

Торфогрунт после окончания опытов №1-3, содержал достаточное количество водорастворимых форм аммонийного азота, фосфора и калия и характеризовался близким к нейтральному значению pH (6,1; 6,7 и 5,2, соответственно), количество же нитратного азота в опытах №2 и 3 было очень низким и составляло от 15,1 до 36,0 мг/кг, в зависимости от вариантов опыта.

Определение содержания изучаемых нами микроэлементов в вегетативных органах растения (табл. 8) показало, что содержание бора в листьях контрольных вариантов было одинаково низким. Обработка растений этим элементом в дозе 1,22 г/л (двойная доза относительно смеси Хогланда) увеличило его концентрацию в листьях роз в 3,5-4 раза и достигло оптимальных значений. Бор локализуется в листьях растений, распределяясь:

лист > корень > стебель, в отличие от меди и цинка, которые накапливаются в корневой системе, где их количества могут превышать, в сравнении с листьями, этот показатель в 5-20 раз. Распределение этих элементов по вегетативным органам: корень > лист ≥ стебель. Образование ферментов, содержащих медь и цинк, идет в корнях (Ронен, 2007), в листьях этих элементов остается очень мало, даже фолиарная обработка растений двойной дозой микроэлементов, относительно смеси Хогланда, не может влиять на микромицеты, в отличие от бора, имеющего другую стратегию накопления. Расчет корреляционной зависимости между содержанием элементов показал, что только бор имел высокую корреляцию с содержанием общего азота по всем вегетативным частям растения: лист (r = 0,96), стебель (r = 0,82) и корень (r = 0,91), а цинк и медь – не показали такой зависимости.

Таблица 8. Содержание микроэлементов в различных вегетативных органах растения, мг/кг

Вариант опыта, № опыта		B			Cu			Zn		
		1*	2*	3*	1*	2*	3*	1*	2*	3*
Конт-роль	№1	3,97	2,18	3,67	0,33	0,74	4,2	3,97	1,72	22,87
	№2	3,63	0,68	1,13	7,66	2,49	9,01	16,37	10,18	40,45
	№3	16,00	5,04	11,15	12,02	10,64	22,18	6,56	17,02	22,18
B	№1	14,48	4,94	8,95	0,23	3,46	7,82	4,47	29,58	29,37
	№2	17,48	3,13	8,13	5,18	4,34	24,49	13,70	13,75	69,95
	№3	14,69	8,55	32,74	126,76	61,81	52,63	30,18	1,99	13,85
Cu	№1	3,56	3,50	2,97	0,90	3,29	8,17	4,10	23,00	17,45
	№2	2,55	1,15	1,77	10,35	6,77	47,43	17,10	10,95	56,88
	№3	13,28	5,40	16,08	209,23	2,75	54,74	1,05	0,18	56,57
Zn	№1	6,79	1,96	5,29	0,17	0,84	0,83	4,73	9,31	23,90
	№1	3,13	0,70	1,99	9,74	6,42	23,54	18,88	13,56	89,81
	№3	55,19	8,56	19,26	12,14	26,61	28,15	19,64	6,88	13,79
∑	№1	10,46	3,31	7,44	0,43	8,53	3,29	4,47	15,35	25,28
	№2	11,10	2,88	9,03	11,58	11,74	13,75	12,97	10,58	72,15
	№3	18,00	3,27	9,17	357,00	94,96	12,67	21,92	1,17	91,03
C/K	№3	17,54	12,88	9,66	158,71	15,73	22,16	25,53	3,50	23,63
$НСР_{0,05}$		1,15	0,92	1,05	21,30	8,21	3,84	2,11	1,63	3,16

1* – лист, 2* – стебель, 3* – корень.

Известно, что дефицит цинка нарушает гормональный баланс, когда не синтезируется аминокислота триптофан, который является фенольным соединением и первым звеном синтеза ауксина. Так как бор непосредственно участвует в метаболизме фенольных соединений, то, можно предположить, что концентрации бора и цинка связаны корреляционными зависимостями. Так, в опыте №1 корреляции между концентрацией бор-цинк в стебле и бор-цинк в корне были r = 0,92, что указывало на очень тесную биохимическую связь между этими элементами. В опытах №2 и 3 таких корреляций не было отмечено, что, по-видимому, связано с недостатком азота, необходимого для

синтеза аминокислот и ферментов. Это лимитировало их синтез, в том числе и триптофана, который, как показано, является предшественником индолилуксусной кислоты. Отмечено повышение содержание цинка в стеблях и корнях растений, обработанных бором или суммой микроэлементов, по сравнению с контрольным вариантом. Иногда концентрация цинка увеличивалась до 2-х раз. Таким образом, при достаточном количестве бора в растении, в него начинал поступать цинк из грунта, иногда шел полный вынос, и в грунте водорастворимых форм этого элемента не определялось (рис. 1).

Есть мнение, что высокая степень поражения растений микромицетными инфекциями связано с недостатком калия в грунте, и, соответственно в растении, а избыток азота, наоборот, усиливает рост плесневых грибов (Дурынина, 1988). В наших опытах, содержание азота в листьях было в нижнем пределе оптимума, а калия – очень высоким, особенно в корневой системе. Однако следует учитывать, что в опыте №1 надземная масса растений была в 1,5 раза больше, чем в опытах №2 и 3, соответственно, и вынос азота из грунтов был разный. По-видимому, в данных условиях это предположение не реализуется. Обращает на себя внимание распределения макроэлементов по вегетативным органам растения: азот – лист > корень > стебель, фосфор – корень > стебель > лист, калий – корень > лист > стебель (табл. 9).

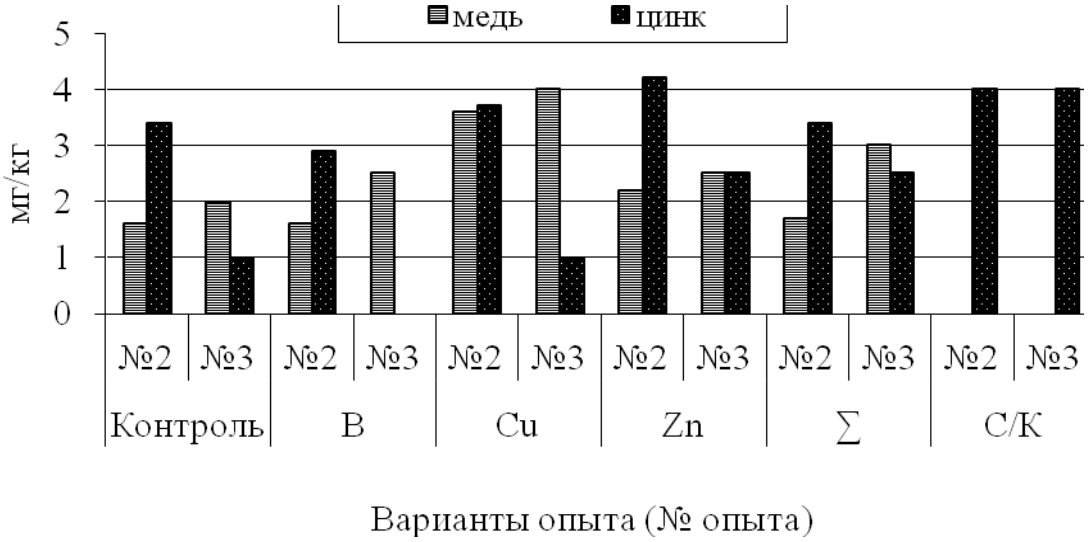

Рисунок 1. Содержание водорастворимых форм меди и цинка в грунтах после окончания опыта, мг/кг.

В стеблях растений (опыт №3) была определена сумма органических кислот (СОК). Установлено, что этот показатель повышается при фолиарной обработке растений бором, медью, суммой микроэлементов и салициловой кислотой в 3-10 раз. Так в контрольном варианте СОК составляла 0,11 %, B – 0,38 %, Cu – 0,39 %, ∑ м/э – 1,05 %, С/К – 0,38 %. По теории Комеса, такое увеличение кислотности клеточного сока – один из путей поднятия пассивного иммунитета растений (Вавилов, 1983).

Совместное внесение бора, меди и цинка понижает их концентрацию в листовой пластине, по сравнению с обработкой растений отдельно каждым из этих элементов (табл. 8).

Установлено, что в период проявления внешних симптомов недостатка цинка, растения имеют высокую потенциальную способность к синтезу индолилуксусной кислоты (ИУК) из аминокислоты триптофана, однако лишены способности ее реализовывать. В отсутствии триптофана ферментная система ИУК резко снижает свою активность или вообще в растениях не обнаруживается (Физиология растений, 2005). Следовательно, задержки роста у цинкодефицитных растения является не нарушение в синтезе самой ферментной системы, а отсутствие субстрата, необходимого для проявления ее активности. Причем влияние цинка на ферментативную систему синтеза ИУК из триптофана специфическое, так как в аналогичных условиях борная недостаточность не дает таких же результатов.

Таблица 9. Содержание макроэлементов в различных вегетативных органах растения, %

Вариант опыта, № опыта		N			P_2O_5			K_2O		
		1*	2*	3*	1*	2*	3*	1*	2*	3*
Конт-роль	№1	1,53	1,00	1,23	0,33	0,95	1,32	2,61	0,87	4,42
	№2	1,91	0,72	1,41	0,61	0,67	0,82	2,55	1,10	3,61
	№3	1,68	0,95	1,32	0,72	0,28	1,05	1,75	1,01	1,29
B	№1	2,28	1,44	1,55	0,24	0,97	1,45	2,40	0,73	4,21
	№2	1,60	0,65	1,68	0,67	0,59	1,13	2,37	1,22	4,15
	№3	1,83	1,20	1,86	0,43	0,69	1,14	1,73	0,91	1,86
Cu	№1	1,62	1,15	1,46	0,23	0,95	1,19	2,69	0,83	3,82
	№2	1,47	0,71	1,61	0,60	0,60	0,79	2,02	0,97	2,63
	№3	1,96	1,32	1,97	0,52	0,73	1,1	2,02	0,90	1,32
Zn	№1	1,93	1,19	1,36	0,30	0,92	1,44	2,59	1,00	4,69
	№2	2,00	0,80	1,38	0,74	0,75	1,40	1,96	1,63	3,68
	№3	1,73	1,23	1,68	0,85	0,46	0,98	1,59	0,91	1,33
∑	№1	1,73	1,13	1,49	0,24	1,01	1,24	2,97	0,78	4,09
	№2	1,42	0,79	1,39	0,81	0,75	1,57	2,36	1,44	3,38
	№3	2,06	1,31	1,87	0,53	0,32	0,72	1,61	0,76	1,73
C/K	№3	1,99	1,09	1,71	0,51	0,66	1,1	2,06	0,99	1,97
$НСР_{0,05}$		0,20	0,07	0,17	0,03	0,06	0,32	0,75	0,09	0,2

1* – лист, 2* – стебель, 3* – корень.

Таким образом, угнетение растений, выращенных в условиях цинковой недостаточности, в первую очередь, связано с ослаблением процессов биосинтеза индольных соединений и накоплением ингибиторов роста, что приводит к нарушению правильного соотношения активаторы : ингибиторы, в обмене регуляторов роста, в том числе в угнетении активности ИУК, синтезирующейся ферментной системой.

Регуляция цинком процессов роста осуществляется как на уровне управления активностью ферментов, катализирующих реакцию биосинтеза индольных ауксинов, так и на уровне транспирации. Причем это вторая регуляторная функция цинка прямая; она не опосредована через связь между обменом регуляторов роста и нуклеиновых кислот, а вытекает из прямого участия цинка в метаболизме нуклеиновых кислот (Охрименко, 1986).

В опыте №3 растения в последние 30 суток вегетации испытывали тепловой стресс, вызываемый высокими температурами, что приводит к потере воды растительными тканями.

Как известно, одним из основных элементов адаптации растительных организмов к перегреву являются белки теплового шока (БТШ), которые синтезируются при повышении температуры. Это 30-50 белков, которые образуются в растении и обнаруживаются уже через 3-5 минут после резкого повышения температуры (Медведев, 2004).

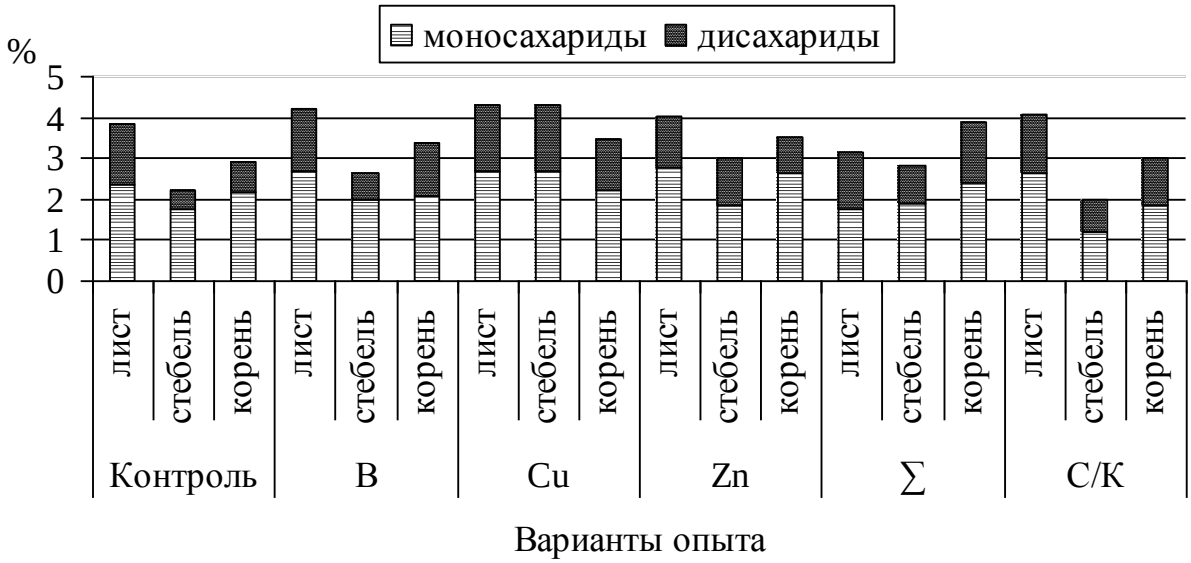

Рисунок 2. Содержание моно- и дисахаридов в розах сорта Lovely Red в различных вегетативных органах растения (опыт №3), %.

В нашем исследовании при вегетации растений в условиях теплового шока происходило накопление меди и цинка в листовой пластине во всех вариантах, кроме контрольного. Эти микроэлементы поступают в нее не только с обработками, но и из грунтов. Однако, при нарушении всех обменных процессов, в том числе и белкового, эти элементы не вовлекаются в серию биохимических превращений, а остаются невостребованными, что может привести к гибели растений из-за их сильной токсичности, в отличие от вариантов с обработкой салициловой кислотой, где не наблюдалось такого накопления. В корнях растений резко снижается концентрация калия, до 2,5 раз, что, по-видимому, связано с участием этого элемента в регулировании устьичного сопротивления и транспорте в верхнюю часть растений элементов питания, в частности, меди и цинка (табл. 9).

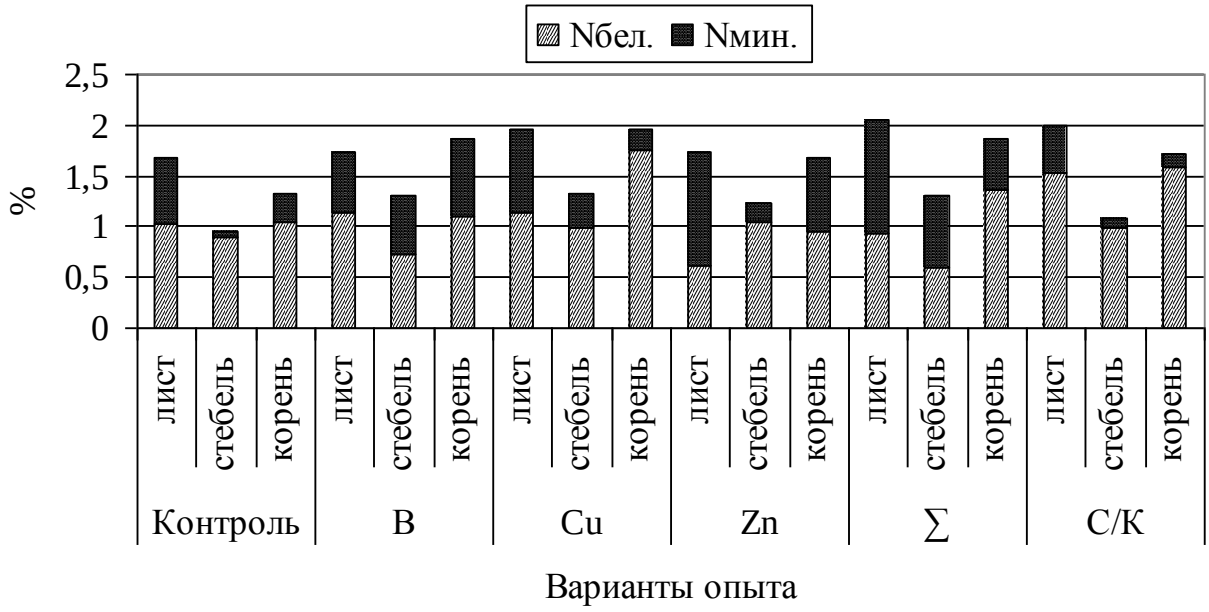

Рисунок 3. Содержание в разных вегетативных органах роз (опыт №3) белкового и минерального азота

Фолиарная обработка роз сорта Lovely Red микроэлементами и салициловой кислотой в опыте №3 практически на всех вариантах опыта увеличивала содержание в листовой пластине углеводов, однако это увеличение шло за счет дисахаридов, что не влияло на энергетику синтеза органических соединений (рис. 2)

Тепловой шок неблагоприятно отражается на соотношении белкового и общего азота, в отличие от варианта с обработкой салициловой кислотой, где в ситуации стресса этот показатель очень высок (в корне – 0,93). Особенно низким этот показатель был на варианте с фолиарной обработкой борной кислотой и составил от 0,59 до 0,62, в зависимости от вегетативной части растения (рис. 3).

Глава 4. Результаты исследования действия кремнийсодержащего удобрения и бактериальных препаратов, внесенных в грунт, на повышение устойчивости роз к инфекциям

В производственном опыте №6 после окончания исследований была измерена только высота растений, массу растений определить не удалось, т.к. эти розы предназначены для промышленного производства. Показано, что для роз, выращенных на вариантах с совместным применением диатомита и бактериальных препаратов, этот показатель в среднем от 80 до 90 см, что практически в полтора раза выше, чем на контрольном варианте ТП. Самым эффективным бактериальным препаратом был *Bacillus circulans* штамм 2 – вариант ТПДЗ (рис. 4).

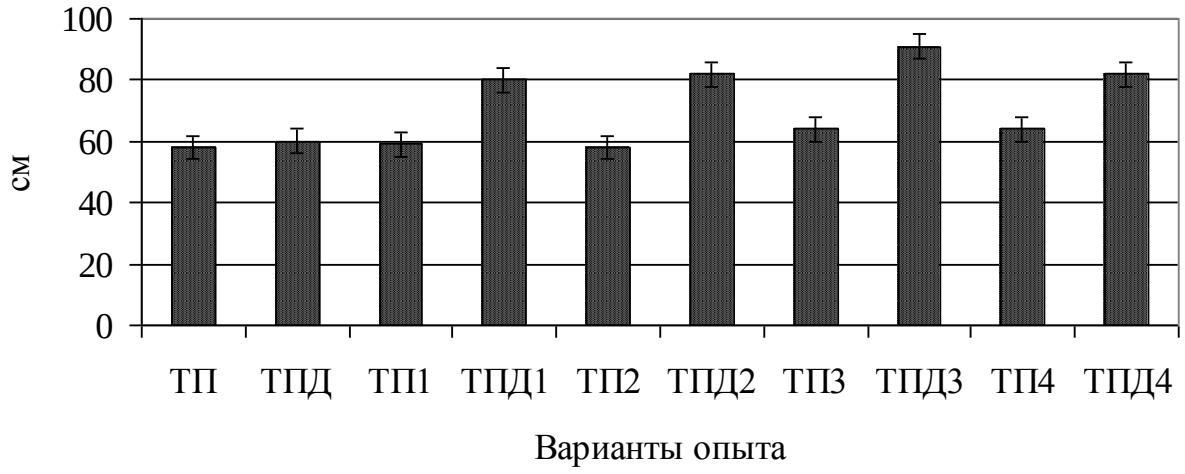

Рисунок 4. Высота растений производственного опыта №6.

Во время проведения производственного опыта в торфогрунте отмечен значимый рост численности общего микробного числа. Численность микроорганизмов, выросших на Питательном агаре, увеличилась на 1-2 порядка, в среднем с 5×10^7 до 10^9, на всех вариантах опыта за исключением ТП, что можно объяснить регулярным внесением биопрепаратов и выделяемыми корнями растений экссудатами, как источником легкодоступного органического субстрата для питания гетеротрофных микроорганизмов, что снижало трофическую конкуренцию между бактериями и стимулировало рост их численности (рис. 5).

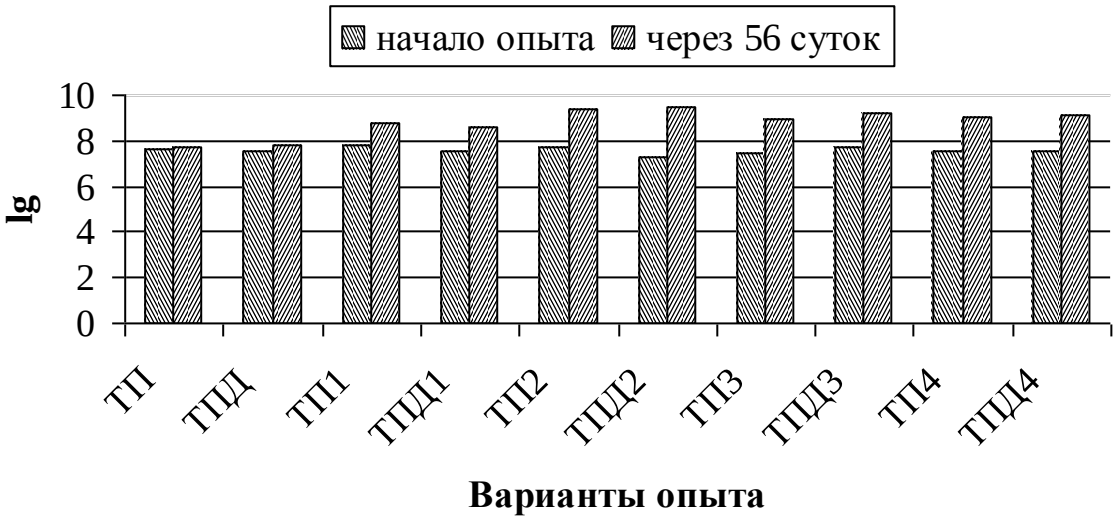

Рисунок 5. Изменение численности сапротрофов в грунте производственного опыта.

За время эксперимента также отмечен значимый рост микроорганизмов, вырастающих на силикатной среде (рис. 6). Так, за 56 суток численность этой физиологической группы увеличилась на 2,5 – 3 порядка на вариантах с применением бактериальных препаратов, как совместно с диатомитом, так и без него. Наибольшие увеличение численности произошло на варианте с применением БП2, здесь численность

микроорганизмов, обладающих силикатной активностью возросла с 10^5 практически до 5×10^8 КОЕ/г грунта.

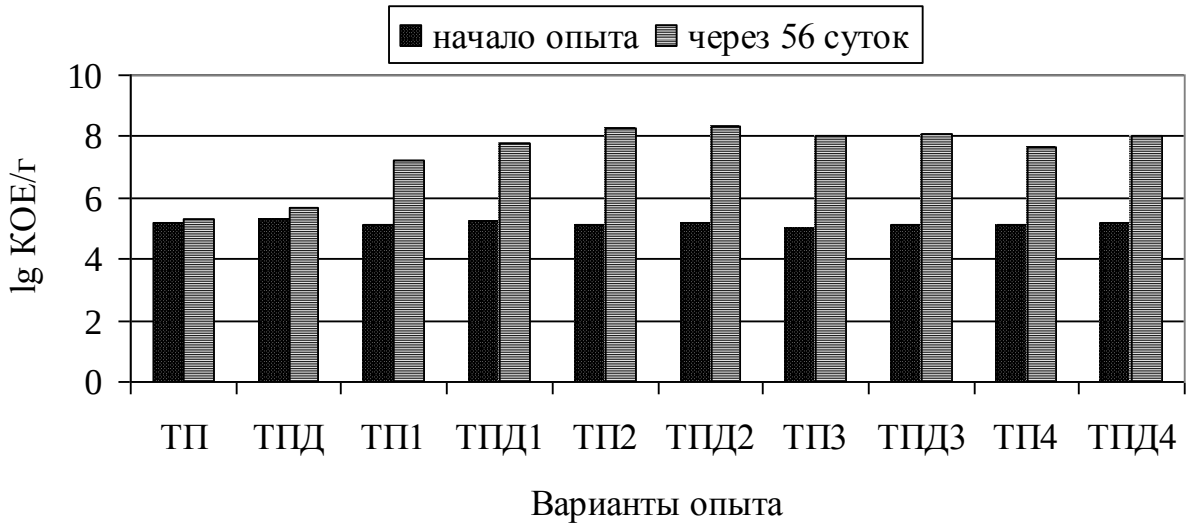

Рисунок 6. Изменение численности микроорганизмов в грунте производственного опыта №6, вырастающих на силикатной среде.

На варианте с добавлением диатомита (ТПД) рост численности составил полпорядка, на контрольном варианте значимых различий в численности от начала до конца эксперимента отмечено не было, что говорит о том, что на рост количества микроорганизмов, способных расти на силикатной среде, в наибольшей степени повлияла обработка биопрепаратами опытных участков. Внесение диатомита значимо на этот показатель в производственных условиях не повлияло.

При оценке доли микроорганизмов, выросших на силикатной среде от общего микробного числа, было показано, что обработка биопрепаратами изменяла структуру микробного сообщества, и доля силикатных бактерий в сообществе увеличилась в 10-30 раз от численности сапротрофов.

Наибольшее изменение соотношения силикатных бактерий и сапротрофов было отмечено на варианте ТПД1. Это было также показано в вегетационном и модельном опытах (опыты № 7-8), следовательно, перестройка структуры микробного сообщества в отношении этих двух групп микроорганизмов при внесении биопрепаратов аналогична в экспериментах различного уровня. На фоновых вариантах, ТП и ТПД, существенных изменений не наблюдалось, однако, на вариантах при совместном внесении биопрепарата с диатомитом, наблюдалось более высокая доля микроорганизмов, способных расти на силикатной среде.

Значения pH грунта на протяжении всего опыта имело тенденцию к снижению (рис. 7). На момент начала эксперимента этот показатель был около 6, наибольшее повышение кислотности мы наблюдали на вариантах с обработкой биопрепаратами на основе культур 3 и 4, с применением

диатомита, и без него, pH на этих опытных участках снизился до значений 5,4-5,0. На остальных вариантах опыта этот показатель составил 5,6 – 5,7.

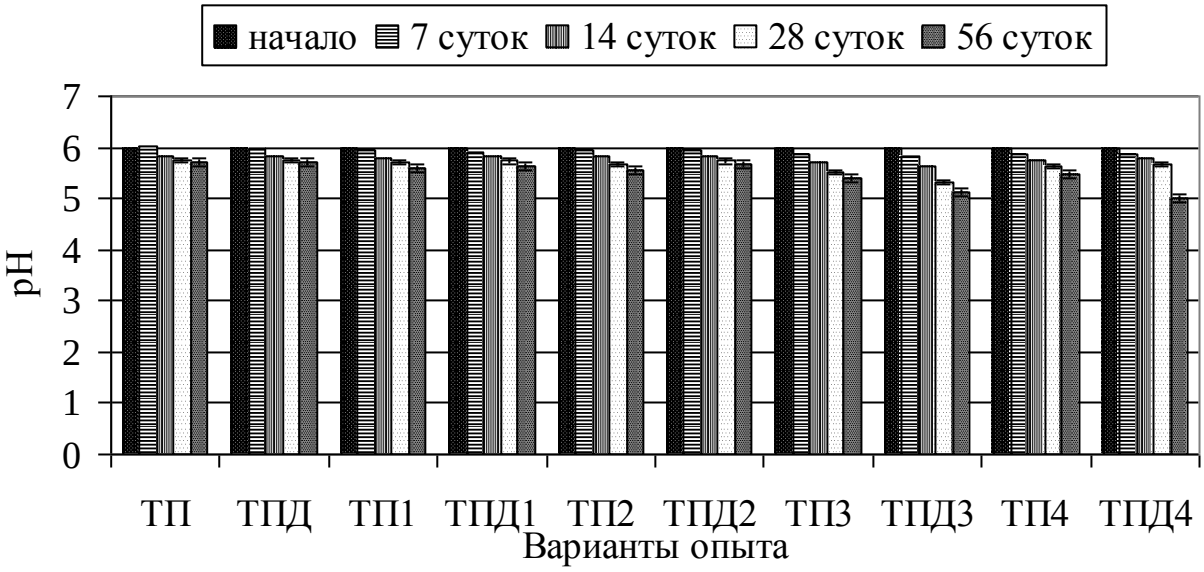

Рисунок 7. Динамика pH грунта производственного опыта №6.

Снижение pH в процессе эксперимента можно объяснить ростом численности микроорганизмов, способных расти на силикатной среде, которые в процессе своей жизнедеятельности могут выделять кислоты в окружающую среду. Наибольшее снижение pH отмечено на варианте ТПД4. Как было показано при рассмотрении структуры микробного сообщества, на этом варианте было отмечено десятикратное увеличение численности бактерии *Acetobacterium* sp., которая отличается способностью к накоплению уксусной кислоты. В свою очередь, корневые выделения растений также могут содержать органические кислоты, что тоже снижало pH грунта.

Изменение содержания фосфора в грунте за 56 суток было значительным (рис. 8). Через 56 суток максимальное его значение достигало 480 – 580 мг/кг грунта на вариантах с применением биопрепаратов 3 и 4, как с диатомитом, так и без него. На увеличение содержания водорастворимого фосфора повлияли значения pH грунта, которые на этих вариантах были минимальны (5,0 – 5,4), за счет локального подкисления, что способствовало химическому разложению органического вещества и труднорастворимых фосфорсодержащих соединений с последующим высвобождением минерального фосфора. Об этом свидетельствует высокий коэффициент корреляции между pH и содержанием водорастворимого фосфора в торфогрунте (r = – 0,87). Высокая численность микроорганизмов грунта так же способствовала разложению его органического вещества и, соответственно, мобилизации фосфора.

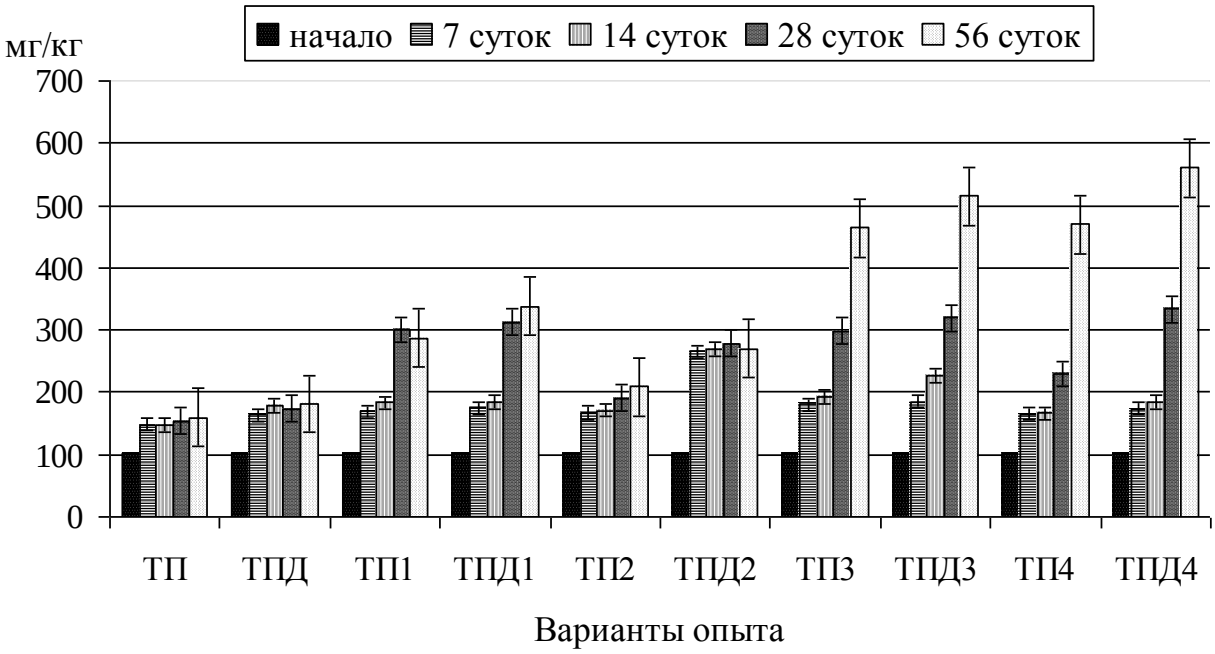

Рисунок 8. Динамика содержания водорастворимого фосфора в грунте производственного опыта №6.

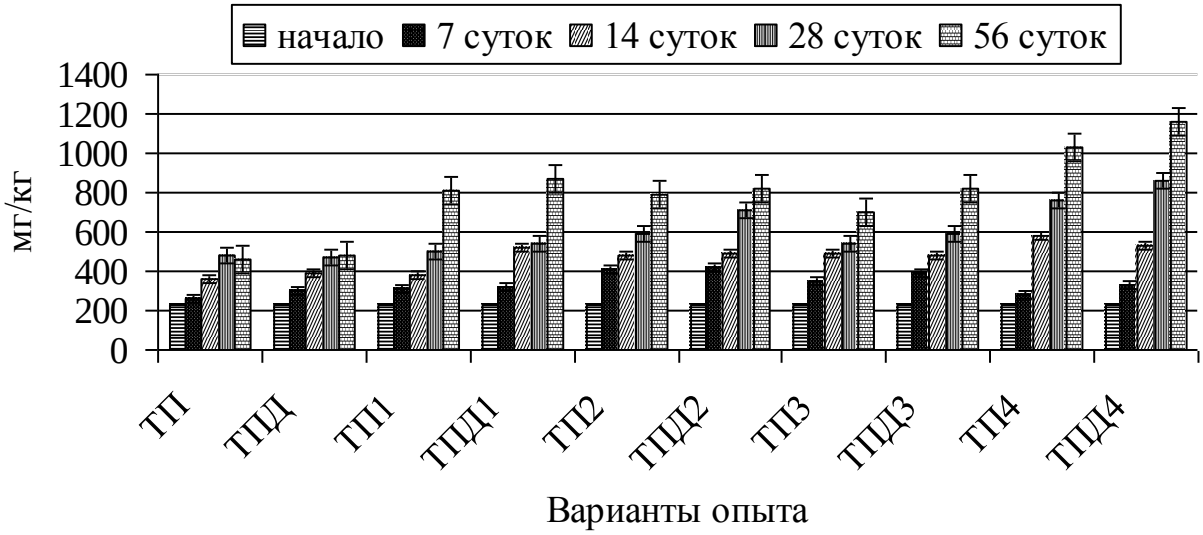

Рисунок 9. Динамика содержания водорастворимого калия в грунте производственного опыта №6.

Содержание водорастворимого калия (рис. 9) выросло на всех вариантах опыта с применением бактериальных препаратов. Через 56 суток его концентрация составляла 800 – 1200 мг/кг грунта. Наибольшее увеличение произошло на варианте ТПД4. Столь высокая мобилизация калия может быть связана с подкислением грунта, так как коэффициент корреляции между pH и данным показателем составил r = – 0,65. Разницы между вариантами ТП и ТПД не было отмечено, но в процессе вегетации на обоих этих вариантах наблюдалось повышение концентрации водорастворимого калия примерно с 200 до 500 мг/кг грунта.

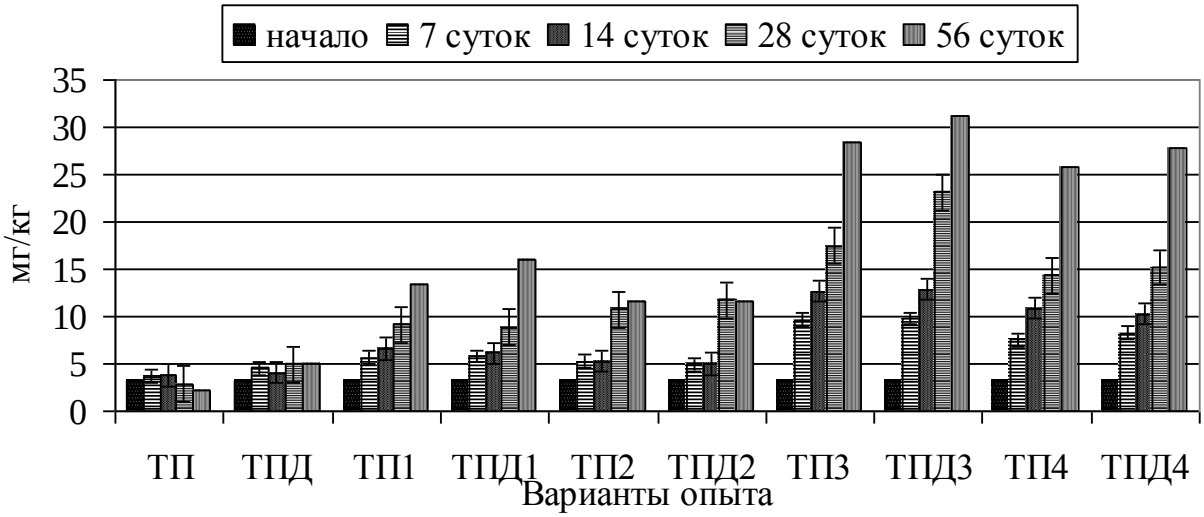

Рисунок 10. Динамика содержания водорастворимого кремния в грунте производственного опыта №6.

Также следует отметить, что коэффициент корреляции между содержанием водорастворимого калия в грунте и численностью микроорганизмов, выросших на силикатной среде, равен 0,74, что свидетельствует о влиянии на мобилизацию этого элемента.

Динамика содержания водорастворимого кремния так же имела тенденцию к росту (рис. 10). Наибольшую активность в мобилизации этого элемента проявили биопрепараты на основе культур 3 и 4. К моменту окончания опыта его содержание в грунте этих вариантов повысилось практически в 10 раз и составило 25 – 30 мг/кг грунта. Коэффициент корреляции показал, что на мобилизацию кремния в наибольшей степени повлияло подкисление среды (r = - 0,84) и численность микроорганизмов обладающих силикатной активность (r = 0,66)

Отмечено, что коэффициент корреляции между водорастворимыми формами фосфора и кремния равен 0,97, что говорит о большом родстве между мобилизацией и поглощением этих элементов растениями, что отражено в ряде публикаций (Матыченков, Бочарникова, 2003; Чумаченко, Алиев, 2001; Гладкова, 1982).

Содержание нитратов в грунте значимо выросло на всех вариантах опыта (рис. 11), но, в основном, это произошло по причине усиленной подкормки растений азотом в форме нитратов с водами капельного полива. Наиболее значимые различия оказались на вариантах ТПД3 и ТПД4, здесь этот показатель был выше, чем на других вариантах в 4 – 5 раз. Высокие значения по этому показателю в торфогрунтах наблюдали в течение многих лет работы в Ульяновском совхозе декоративного садоводства. Значения доходили до нескольких десятков тысяч мг/кг грунта.

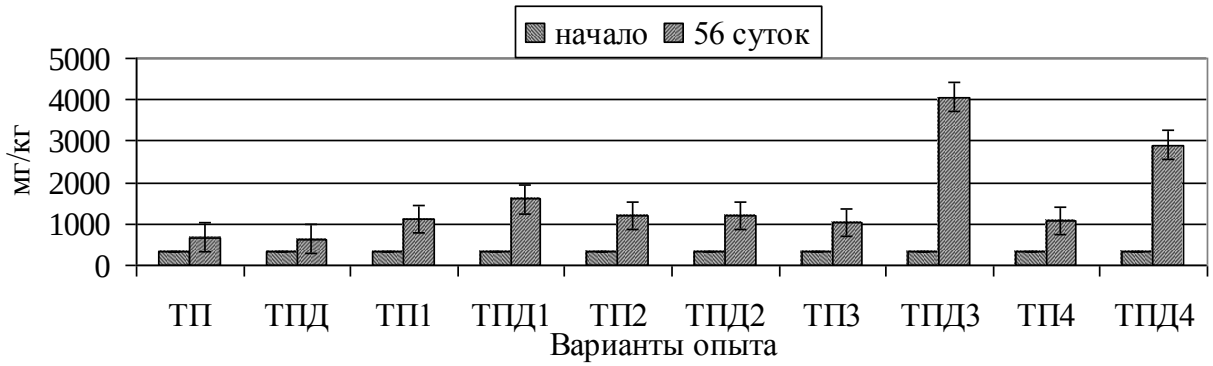

Рисунок 11. Динамика содержания нитратов в грунте производственного опыта №6.

Содержание ионов аммония в грунте всех вариантов опыта было незначительным и колебалось от 2 до 4 мг/кг грунта.

На вариантах с применением биопрепаратов происходило более интенсивное поглощение азота растениями (рис. 12). Наибольшее относительное увеличение отмечено для корневой системы.

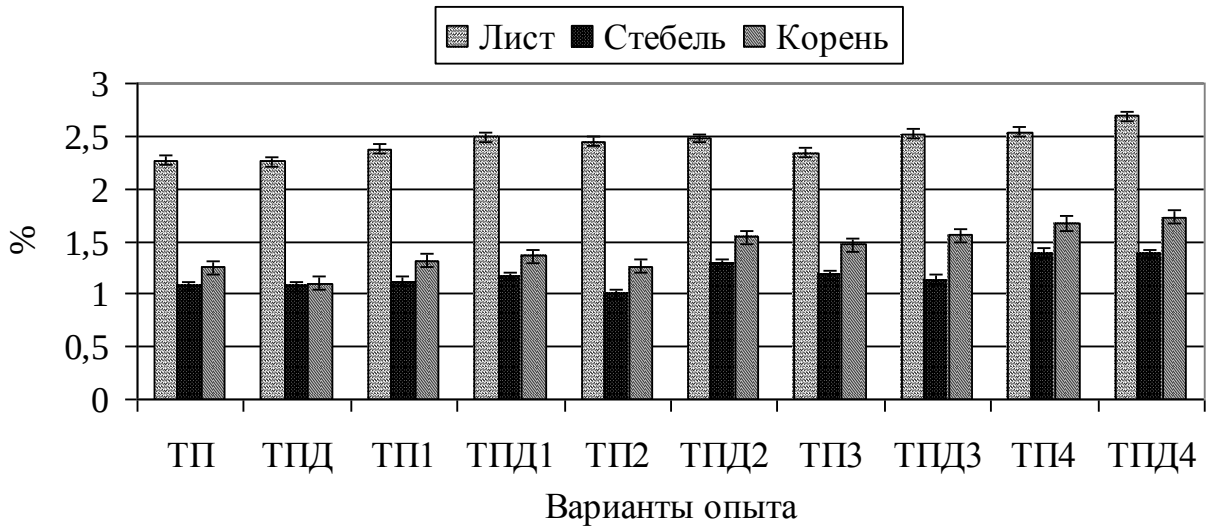

Рисунок 12. Содержание общего азота в растениях производственного опыта №6.

Накопление фосфора растениями интенсивнее всего проходило на вариантах с применением биопрепаратов 3 и 4 совместно с диатомитом и без него. Тенденция накопления фосфора в разных вегетативных органах роз была схожа с таковой для азота. Содержания фосфора в листьях роз колебалось от 0,4 до 0,55 %, в стеблях 0,4 – 0,6 %, наибольшие значения были показаны в корнях – от 0,9 до 1,2% (рис. 13). Все варианты, за исключением ТП1 значимо отличались от фоновых вариантов (ТП и ТПД), что говорит о том, что обработка биопрепаратами на основе культур 2, 3, и 4 – эффективна. Количество фосфора в растениях коррелировало с содержанием водорастворимой формы фосфора, кремния в грунте и численностью микроорганизмов с силикатной активностью, коэффициенты корреляции были довольно высоки и равнялись 0,75, 0,82 и 0,96,

соответственно. Следовательно, эти данные еще раз свидетельствуют о взаимосвязи численности микроорганизмов с силикатной активностью, содержанием водорастворимых форм фосфора и кремния в грунте, а также их поглощении растениями.

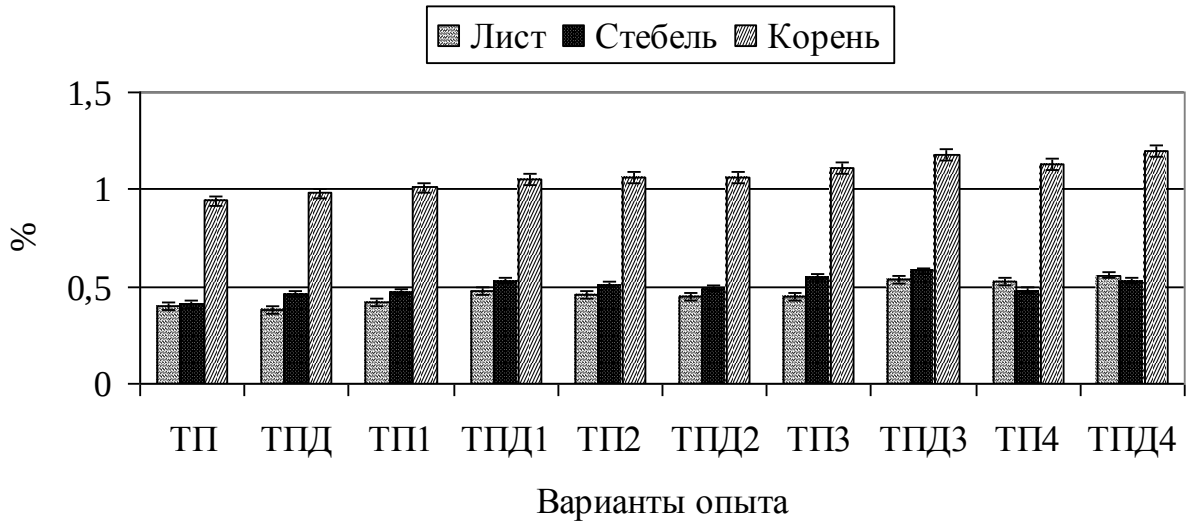

Рисунок 13. Содержание фосфора в растениях производственного опыта №6.

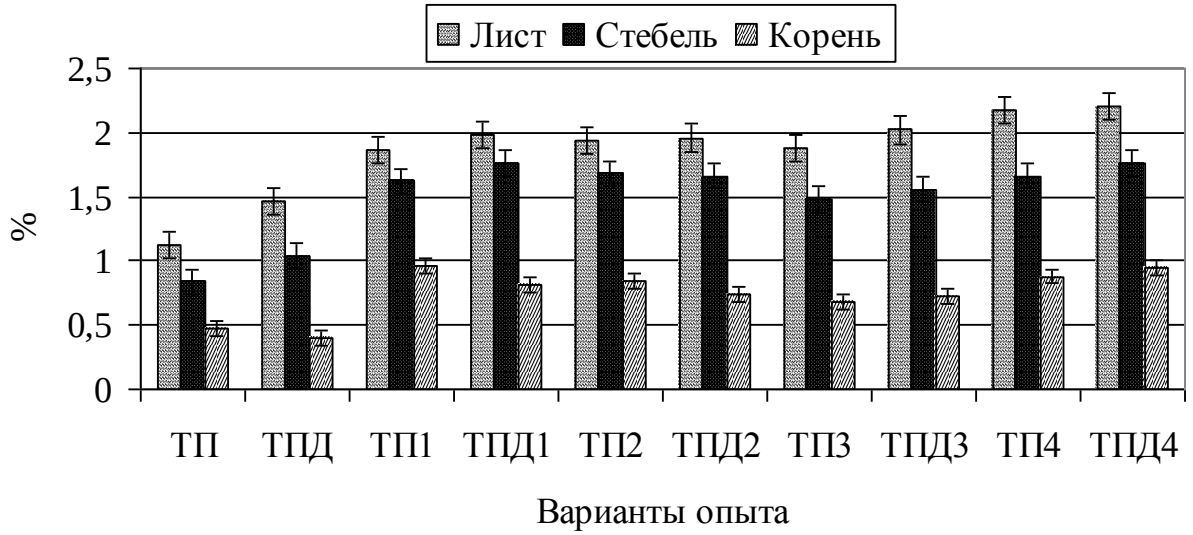

Рисунок 14. Содержание калия в растениях производственного опыта №6.

Накопления калия в розах так же было значимо выше на вариантах с применением биопрепаратов (рис. 14), чем на фоновых (ТП и ТПД). Наиболее значима, эта разница проявилась в корнях растений, здесь она составляет практически 100%. Так же большая разница наблюдалась и в стеблях растений, в среднем, 1,0% – на фоновых вариантах и 1,6% – на остальных.

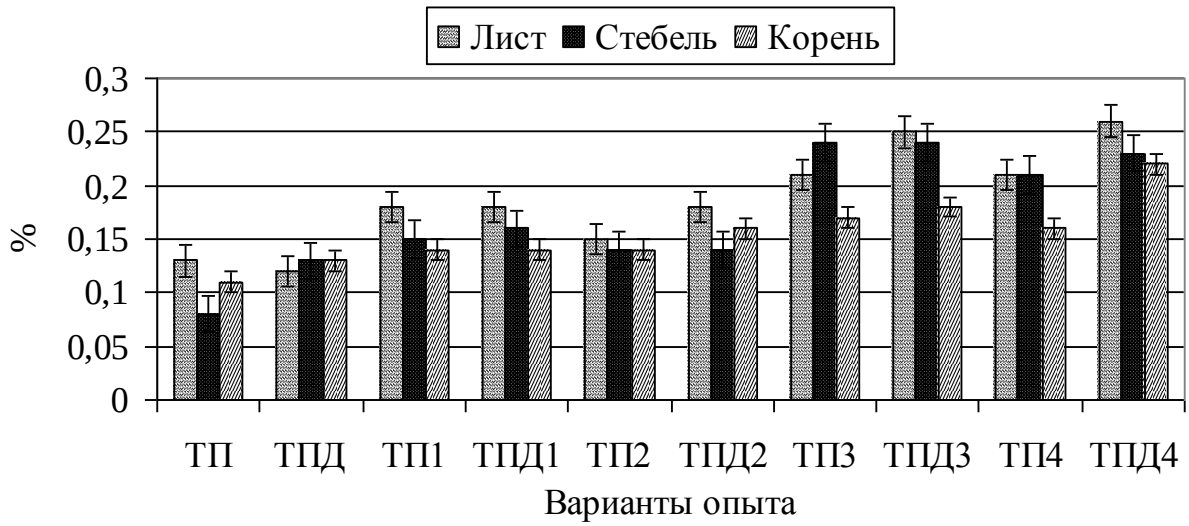

Рисунок 15. Содержание кремния в растениях производственного опыта №6.

Наибольшее накопление кремния в листьях и стеблях происходило на вариантах ТП3, ТПД3, ТП4, ТПД4, значения колебались от 0,21% до 0,26%, а в корнях – 0,16 – 0,22%. На вариантах с применением остальных биопрепаратов были отмечены значимые отличия по накоплению кремния в стеблях и листьях. Прибавление одного диатомита значимо влияло на накопление кремния только в корнях (рис. 15).

Для объяснения процессов, проходящих в грунте в условиях производственного опыта №6, был проведен модельный опыт №7.

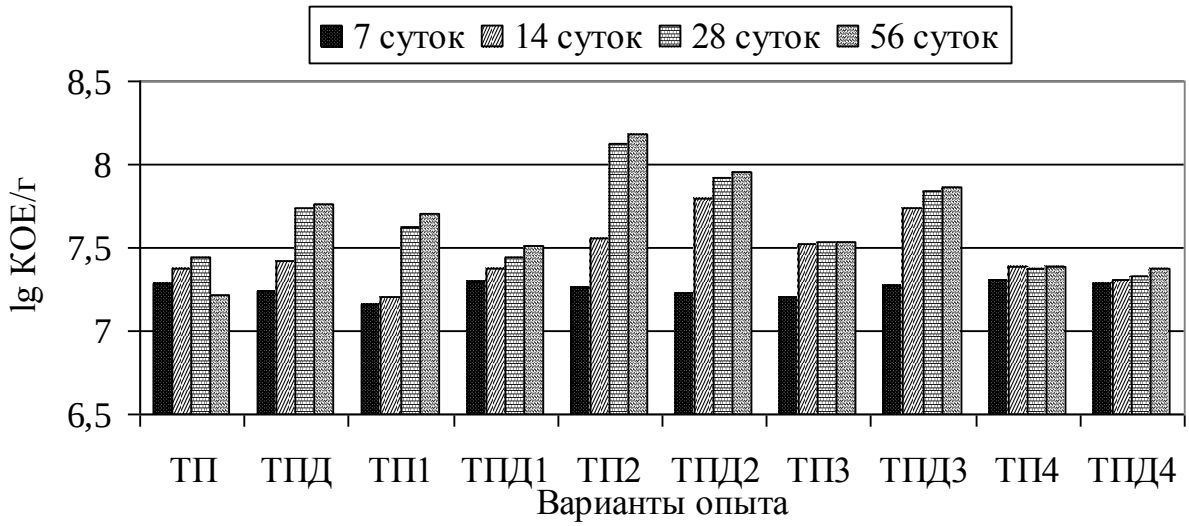

Рисунок 16. Динамика численности сапротрофов в грунте модельного опыта.

Хорошо известно, что микробное население прикорневой зоны растений оказывает значительное влияние на вегетацию растений и качество растительной продукции (Wippis, 1986). Действительно, влияние физических, химических и биологических свойств почвы на растение в наибольшей степени проявляется именно через ризосферу и обитающих в ней микроорганизмов (Rovira,1979). В модельном опыте было исследовано

чистое влияние биопрепаратов, исключающее влияние ризосферных выделений на мобилизацию фосфора, калия и кремния.

В течение всего опыта на всех вариантах опыта, за исключением ТП, наблюдалась положительная динамика роста общей численности сапротрофов в грунте. Наибольшего значения этот показатель достигал на варианте с применение БП 2, увеличение количества сапротрофов произошло на 1 порядок, примерно с 10^7 до 10^8, наибольший прирост был в период 14-28 суток после закладки опыта. Увеличение численности микроорганизмов в грунте можно объяснить как благоприятными условиями, созданными для их роста, так и добавлением суспензий биопрепаратов (рис. 16).

Численность микроорганизмов с силикатной активностью через 7 суток значимо не отличалась по вариантам опыта, и составила порядка 10^6 КОЕ/ г · грунта. Через 14 суток этот показатель повысился в 3-4 раза на всех вариантах опыта с применением микроорганизмов совместно с диатомитом, а также с БП 2 и БП 3 и достиг 5×10^6-10^7. На фоновых вариантах и вариантах с применениемБП 1 и 4 роста численности установлено не было. По истечению 28 дней с начала опыта численность достигала максимума и выходила на стационарный рост. На вариантах ТП1, ТПД1, ТП2, ТПД2, ТПД3 она была на порядок, а на вариантах ТП3, ТП4, ТПД4 – на полпорядка выше, чем на фоновых вариантах (рис. 17).

На вариантах с применением биопрепаратов доля силикатных микроорганизмов от общего числа сапротрофов в грунте составила от 8% до 27%. Наибольшая доля этой микробиоты была отмечена на варианте с применением БП 1. Так, через 56 суток после начала опыта она составляла примерно 22% и 27% на вариантах ТП1 и ТПД1, соответственно. Следует отметить, что на всех варианта опыта, за исключением фоновых, доля силикатных микроорганизмов была выше при применении диатомита. Существенная разница в этом отношении была заметна уже после 14 суток после закладки опыта. Затем, по истечении 56 суток она немного увеличивалась. Наиболее заметна она была на вариантах с применением БП 1 и 2, которые имеют как наибольшую долю силикатных микроорганизмов от общего микробного числа (ОМЧ), так и наибольшую их концентрацию в грунте (рис. 17). Это может быть связано с тем, что на данных вариантах этому типу бактерий проще в трофическом отношении, так как диатомит содержит большое количество доступной кремнекислоты, необходимой им для жизнедеятельности. Можно сказать, что прирост общего микробного числа происходил во многом благодаря росту микроорганизмов, выросших на силикатной среде.

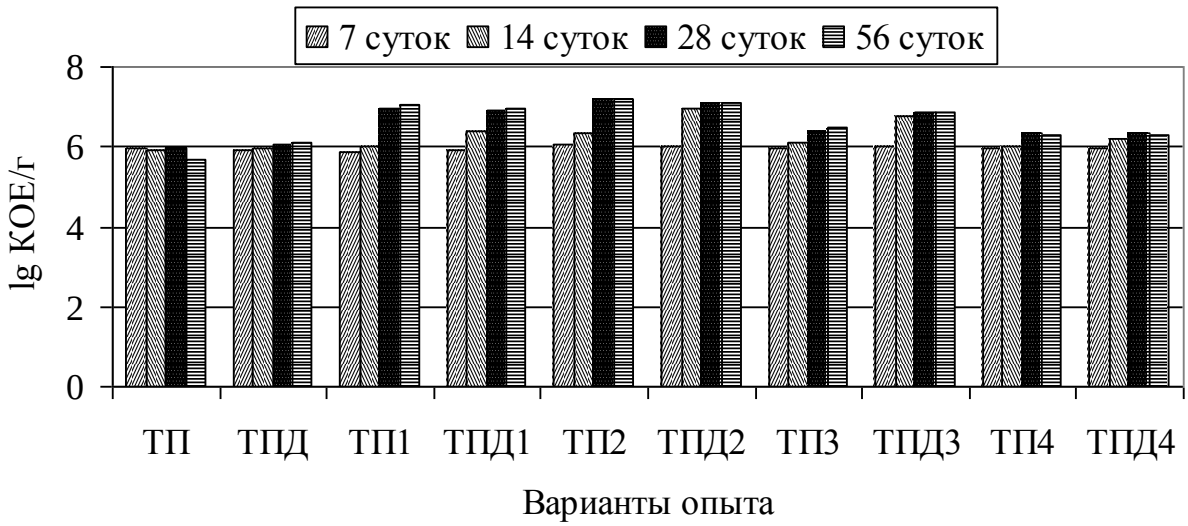

Рисунок 17. Динамика численности микроорганизмов, выросших на силикатной среде, в грунте модельного опыта.

Методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии была изучена структура микробного сообщества фоновых вариантов (ТП и ТПД) и одного варианта с применением биопрепарата – ТПД4. Плотность микробного сообщества была довольно высока и составляла более чем 10^8 клеток на 1 г. грунта. В общей сложности было выделено 33 рода на варианте ТП (43 вида), 36 родов в грунте ТПД (44 вида) и 34 рода на варианте ТПД4 (42 вида). Таким образом, видовое разнообразие оказывается выше при добавлении в торфогрунт диатомита, по сравнению с вариантом, где дополнительно вносится биопрепарат. Структура микробного сообщества грунта варианта ТПД4 преобразовалась во время компостирования, как количественно (число микроорганизмов снизилось примерно на 30%), так и качественном отношении. Уменьшение количества микроорганизмов в этом варианте произошло за счет числа аэробных (*Pseudomonas putida P. vesicularis, Methylococcus* sp.) и анаэробных (*Bacteroides hypermegas, B.ruminicola*) бактерий. Учитывая, что *Bacteroides* способны образовывать масляную кислоту в больших количествах, а *Enterococcus* может разрушить гуминовые кислоты, снижение количества этих видов в сообществе можно рассматривать, как положительный момент в реорганизации микробного сообщества грунта.

Численность ряда автохтонных видов в грунте увеличилась. Например, численность *Acetobacterium* sp. – культуры, которая способна образовывать значительное количество уксусной кислоты в процессе анаэробного метаболизма (Современная микробиология, 2005), к концу периода компостирования увеличилась в 10 раз. Преимущественное образование уксусной кислоты по сравнению с количеством других летучих жирных кислот (ЛЖК) в грунте было подтверждено нами методом газовой хроматографии. Отмечено также увеличение численности *Caulobacter* sp. практически в 10 раз, который обладает фосфатазной активностью (Chen et. all, 2009).

Таким образом, преобразование фосфора, калия и кремния в водорастворимые формы может происходить как за счет стимуляции размножения автохтонного микроорганизмов, которые способны изменить кислотность среды на локальном уровне, а также за счет ферментативной активности (выщелачивание кремнезема) внесенными микроорганизмами.

Применение биопрепаратов значимо увеличивало содержание водорастворимых форм калия, фосфора, кремния в грунте (рис. 18 – 20). Следует отметить, что, так как опыт закладывался без растений и исследуемые элементы не имеют газообразных соединений, то все их мобилизованные формы остаются в грунте сосуда и ни куда не расходуются. Так как все сосуды находились в одинаковых условиях и различались лишь внесением различных биопрепаратов и добавлением диатомита, то изменение агрохимического состава грунта можно обусловить только двумя этими факторами.

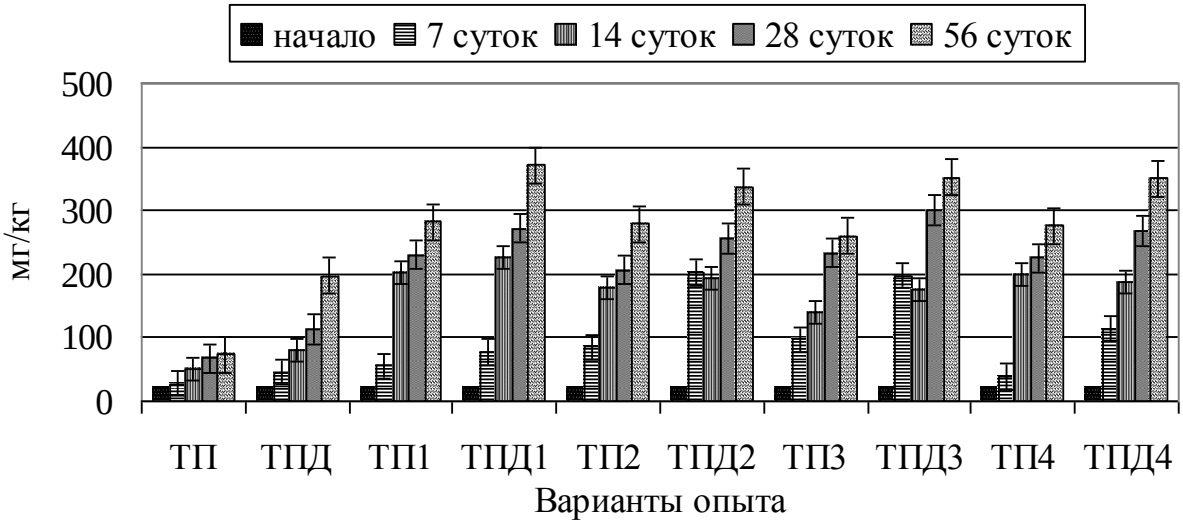

Рисунок 18. Динамика содержания водорастворимого калия в грунте модельного опыта.

Содержание калия существенно возросло уже в течение одной недели после обработки микробными препаратами по всем вариантам за исключением фоновых и дальше увеличивалось на протяжение всего опыта и достигало 260 – 350 мг/кг грунта. На вариантах с микробиологической обработкой рост количества водорастворимого калия в грунте вызван деятельностью микроорганизмов (260 – 280 мг/кг грунта). На вариантах с диатомитом регулярно проявлялись более высокие показания по калию (340 – 360 мг/кг грунта). Это связано с прибавкой калия от диатомита, где некоторое количество его содержится в обменной форме (Капранов, 2010). На контрольном варианте происходила мобилизация калия, но была не столь значительной. Рост содержания подвижного калия на варианте ТПД вызван высвобождением калия из диатомита, тоже, как мы предполагаем, за счет автохтонной микробиоты грунта. В итоге, за 56 дней компостировании, количество водорастворимого фосфора увеличилось более чем в 10 раз на

вариантах с применением биопрепаратов (на 250 – 325 мг/кг грунта). Использование одного лишь диатомита оказалось так же вполне эффективно, его добавление повысило содержание водорастворимого калия более чем в 5 раз (125 мг/кг грунта). Но совместное применение биопрепаратов и диатомита увеличивает этот показатель относительно варианта ТПД практически в два раза. Наибольшее увеличение содержания водорастворимого калия происходило на варианте с применением БП 2 и БП 3. Так, за 7 суток компостирования концентрация водорастворимого калия достигла такого показателя, который остальные варианты опыта, с применением биопрепарата, смогли показать лишь через 14-28 суток (рис. 18).

Содержания фосфора также значительно выросло, что обуславливается также деятельностью микроорганизмов, присутствующих в грунте. Происходило разложение органического вещества, что сопровождалось мобилизацией фосфора в грунте. В виду того, что в грунте очень низкая поглощающая способность, то фосфор, выделенный из органического вещества, потреблялся только микроорганизмами и не минерализовался, и не фиксировался поглощающим комплексом. Учитывая, что содержание валового фосфора составляет в среднем 1100 мг/100 г грунта, можно сказать, что процент высвобождения фосфора колебался от 7 до 8,5 % за 8 недель на всех вариантах с микробными препаратами, кроме БП3. В итоге, содержание водорастворимого фосфора достигло примерно от 800 до 1000 мг/кг грунта на вариантах с применением биопрепаратов и диатомита, за исключением варианта ТП3. Учитывая, что на начало опыта, его содержание составляло около 150 мг/кг грунта, можно сказать, что применение одних лишь биопрепаратов увеличило содержание водорастворимого фосфора практически в 7 раз (с 150 мг/кг грунта до 800 – 850 мг/кг грунта), за исключением биопрепарата на основе культуры 3 (рис. 19).

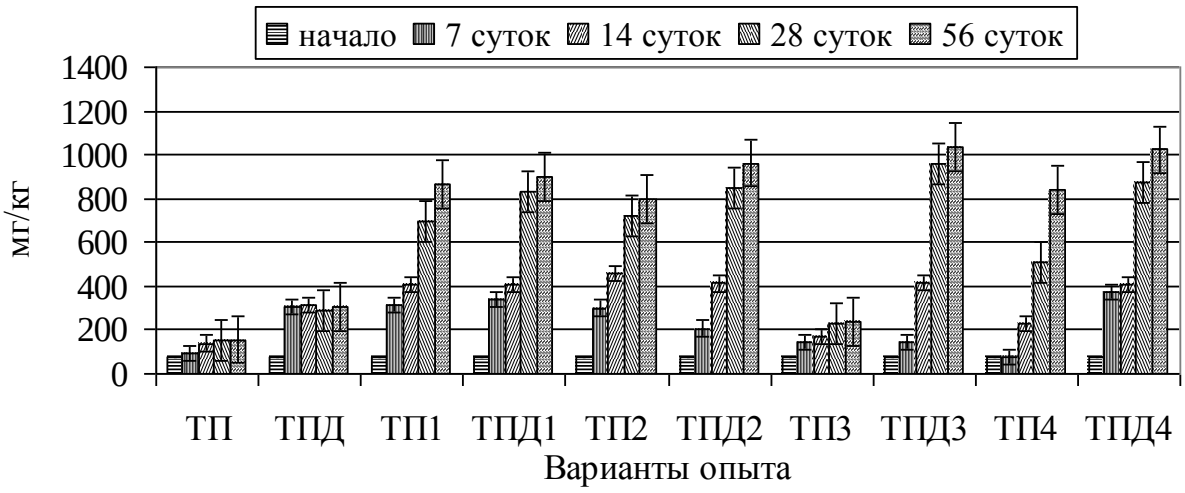

Рисунок 19. Динамика содержания водорастворимого фосфора в грунте модельного опыта.

Добавление диатомита совместно с применением биопрепаратов не давала заметного прироста содержания фосфора, по-видимому, их совместное применение для этой цели не целесообразно. Лишь на варианте с применением БП3, внесение диатомита дало значительный вклад в мобилизацию фосфора грунта. На остальных вариантах значимой разницы не выявлено.

Скорость мобилизации фосфора всеми биопрепаратами была практически одинаковая. Небольшие отличия наблюдались для вариантов с применением микробиологической обработки БП3 и БП4, без дополнительного внесения диатомита, здесь были замечены пониженные темпы высвобождения фосфора в водорастворимую форму.

Столь активная мобилизация фосфора возможна за счет кислотных выделений анаэробных микроорганизмов, рост численности гетеротрофов. Наличие этих факторов было показано при описании микробиологических характеристик грунта.

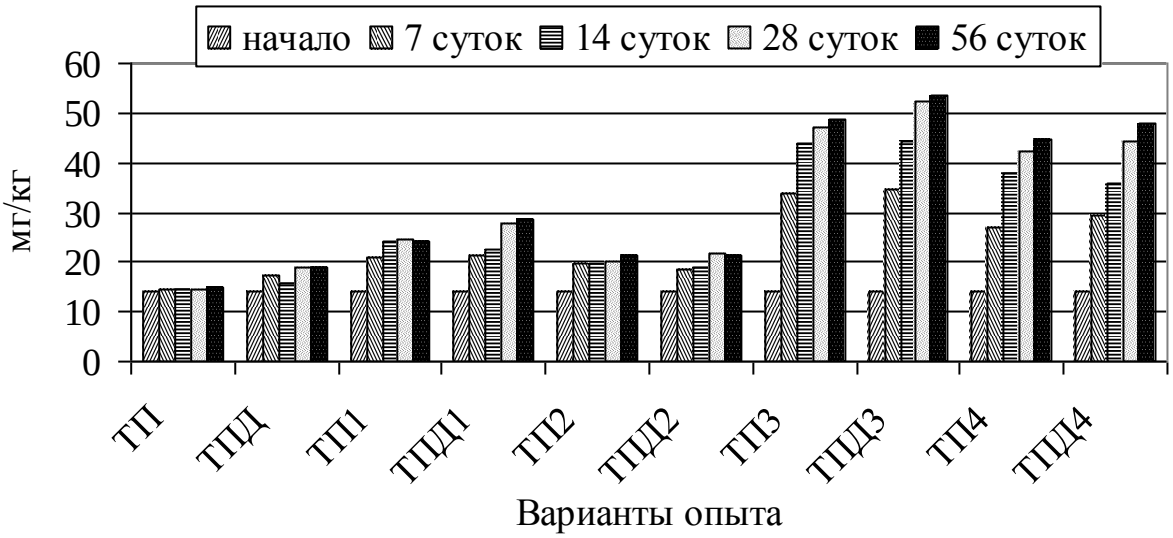

Рисунок 20. Динамика содержания водорастворимого кремния в грунте модельного опыта.

Отмечена тенденция к увеличению содержания водорастворимого кремния по всем вариантам опыта по сравнению с контрольными (ТП и ТПД). Это подтверждается данными полученными при микробиологическом анализе. Увеличение численности микроорганизмов, выросших на силикатной среде, объясняет тенденцию к росту водорастворимого кремния. Наиболее значимо оно выражено на вариантах с применением БП3 и БП4, здесь содержание кремния составило 45 - 50 мг/ кг грунта за 56 суток компостирование. Произошло увеличение данного показателя практически в 5 раз (примерно на 40 мг/кг грунта). Несмотря на то, что доля микроорганизмов, выросших на силикатной среде, к общему числу сапротрофов в грунте на этих вариантах была ниже, чем на вариантах с применением других БП, здесь был показан максимальный рост содержания

водорастворимого кремния. Это может говорить о том, что в данных биопрепаратах задействованы штаммы микроорганизмов с самой высокой способностью к мобилизации кремния. В наименьшей степени рост проявился на вариантах с применением БП1 и БП2, он составил 21,5 и 26 мг/кг грунта, соответственно. Из этого следует, что бактериальные культуры, внесенные в грунт, способствуют переводу кремния из нерастворимых соединений в водорастворимые формы, но их активность отличалась (рис. 20).

В проведенных вегетационных опытах № 8 и 9 подтверждается та же тенденция увеличения концентрации водорастворимых форм азота, фосфора, калия и кремния, и, соответственно, повышения содержания этих элементов в растениях.

При определении морфологических показателей растений, было отмечено, что не одно растение, которое было обработано БП не погибло, в отличие от контрольных вариантов ТП и ТПД, где гибель составила 60 и 40 %, соответственно. Применение БП существенно увеличили общую массу укорененных черенков, особенно на вариантах с БП2 и БП4 (табл. 10). Было отмечено цветение всех обработанных вариантов, а на некоторых даже второе цветение, на контрольном варианте растения либо не цвели (вариант ТП), либо цвело только 10% растений (вариант ТПД).

Таблица 10. Морфометрические показатели черенков роз опыта №9 сорта Flash night

Варианты	Масса черенков (средние значения), г			Доля цветущих растений, %	Количество погибших растений, %
	Закладка опыта	Уборка опыта			
		общая	корни		
ТП	3,3	4,1	0,5	0	60
ТПД	4,1	5,5	1,2	10	40
ТП1	2,8	10,2	4,8	80	0
ТПД1	2,4	12,9	6,7	60	0
ТП2	2,3	11,0	6,5	80	0
ТПД2	2,7	11,2	5,6	60	0
ТП3	2,4	10,3	4,0	100	0
ТПД3	1,9	9,0	4,1	100	0
ТП4	2,9	10,4	6,2	100	0
ТПД4	2,8	7,9	1,9	100	0
$НСР_{0,05}$	0,3	1,2	0,6	-	-

Отмечено значительное увеличение мочковатой корневой системы роз этого сорта на вариантах, обработанных биопрепаратами, составившее, по сравнению с контролем, от 10 до 12 раз, что связано со способностью бактерий рода *Bacillus* синтезировать огромное количество биоактивных веществ, в том числе витаминов, аминокислот, ауксинов и т.д. (Смирнов и др., 1985) и фиксировать молекулярный азот. По результатам определения нитратного азота в грунтах после окончания исследований были получены

следующие результаты: контрольные варианты ТП и ТПД содержат 220 и 240 мг/кг азота соответственно, обработанные БП – от 850 до 1000 мг/кг.

В опыте №5 (см. Главу 3), при использовании сорта со стержневой корневой системой такой эффект не был выявлен.

Рисунок 21. Содержание моно- и дисахаридов в розах сорта Flash night в разных органах растения (опыт № 8), %.

Во всех органах роз в вегетационных опытах №8 и 9 на вариантах с корневым внесением биопрепаратов и/или диатомита при выращивании роз сорта Flash night содержание углеводов значимо увеличивалось (рис. 21).

Важно обратить внимание на содержание моносахаридов в вариантах с обработкой биопрепаратами – оно составило 74% от общего количества углеводов, что обеспечивало энергией биосинтез белкового азота.

Глава 5. Эффективность фолиарной обработки бактериальными препаратами в регулировании минерального питания роз в защищенном грунте и устойчивости их к фитопатогенным микромицетам

Перед началом эксперимента с больных роз сорта Mimi Eden были выделены чистые культуры возбудителей микромицетной инфекции в теплице и определены до рода или вида, проведено исследование чистоты воздуха в теплице по Омелянскому. Чашки Петри с питательной средой Питательный агар (ПА) и Чапека-Докса ставили непосредственно на грунт и на уровне самой высокой точки куста роз. Исследования показали, что воздух в теплице загрязнеи спорами грибов, особенно на уровне грунтов, с высотой, где есть пусть и незначительные воздушные потоки, численность микромицетов уменьшалась в два раза. Низ: ПА – 3,5 × 10^4 КОЕ/$м^3$, среда Чапека-Докса – 6,0× 10^4 КОЕ/$м^3$; верх: ПА – 3,5× 10^4 КОЕ/$м^3$, среда Чапека-Докса – 2,8× 10^4 КОЕ/$м^3$.

В качестве исследованных фунгицидов применяли используемые в «Ульяновском» препараты в рекомендованных производителем концентрациях: Сапроль 0,07%; Эупарен 0,1%; Превикур 0,1%; Топаз 0,05%; Фундазол 0,1%; Строби 0,4%; Рекс 0,02%; Родомил 0,1%; Фалькон 0,04%;

Колфуго 0,07%; Квадрис 0,04%; Pentak 0,12%. Для определения чувствительности выделенных микромицетов к фунгицидам использовали метод дисков.

Анализ полученных посевов по величине зон просветления вокруг дисков показал, что *Exophiala* sp. чувствителен только к пяти фунгицидам из двенадцати. Самая высокая чувствительность отмечена для фунгицида Рекс 0,02%. По чувствительности фунгициды располагаются в следующем порядке Рекс > Родомил > Фалькон, Эупарен > Превикур. В теплице все эти фунгициды используются по очереди, превентивная обработка проводится раз в две недели, если идет вспышка заболевания – два-три раза в неделю. Несостоятельность применения фунгицидов для борьбы с микромицетной инфекцией требует поиска других подходов для сохранения растений. Как альтернатива этим веществам и разрабатывался прием фолиарной обработки растений БП.

Перед каждой обработкой растений БП проводили визуальный осмотр растений для подсчета роз с признаками заболевания микромицетной инфекции. Результат осмотра показал, что число пораженных растений до обработки было – от 54 % на контрольном варианте до 53 % на варианте БП1, и уже после первого применения БП снизилось на 35 % по сравнению с контролем и составило к концу опыта 7 % от общего числа роз (снижение в 8 раз). На контрольном варианте за время проведения эксперимента был отмечен небольшой рост числа пораженных растений – с 54 % до 59 % от общего их количества, что по данным статистической обработки не являлось значимым.

Определено очень высокое содержание нитратного азота в грунте (табл. 11) – значительно выше оптимальных значений для роз (opt – 400-1200 мг/кг). Это, вероятно, и было причиной такой высокой пораженности растений микромицетной инфекцией в год обработок БП.

На момент отбора образцов на этих вариантах через девять месяцев, признаков с поражением роз микромицетной инфекцией не было выявлено, что позволяет говорить о положительном последействии БП на микромицетное инфицирование.

Таблица 11. Изменение агрохимических показателей торфогрунтов до начала обработки БП и на момент отбора образцов при определении последействия его внесения (мг/кг)

Год	Вариант	NO_3^-	NH_4^+	P_2O_5	K_2O
До обработки	Контроль	3345	132	159	599
	БП1	3544	128	160	58
Последействие	Контроль	1780	104	197	231
	БП1	1180	130	229	193
$НСР_{0,05}$		983	10	27	89

Микробиологическое исследование торфогрунтов показало, что произошла перестройка микробного сообщества, за счет вытеснения патогенного комплекса микроорганизмов «здоровыми» культурами.

Отмечено снижение численности микромицетов (на два с половиной порядка) и повышение аммонификаторов (почти на два порядка) на варианте с применением фолиарной обработки растений БП по сравнению с контрольным вариантом, на котором статистически значимых изменений в численности бактериальных сапротрофов и микромицетов не происходило (рис. 22). Таким образом, при фолиарной обработке растений БП интродуцируемые нами бактерии попадают и в грунт, по-видимому, с флоэмным током растений и корневыми выделениями.

Численность аммонификаторов и микромицетов в грунте в 2007 г. составила: на контрольном варианте – $2{,}7\pm0{,}6 \times 10^7$ и $8{,}3\pm0{,}6 \times 10^7$, соответственно, на варианте БП1 – $1{,}7\pm0{,}2 \times 10^7$ и $5{,}8\pm0{,}3 \times 10^6$, соответственно. Таким образом, численность аммонификаторов, по сравнению с 2006 годом на контрольном варианте увеличилось на порядок, а на варианте с обработкой БП1, уменьшилось в 3 раза. Увеличение численности аммонификаторов на контрольном варианте было связано с перестройкой микробного сообщества грунта, которая определялась изменениями содержания питательных элементов в грунте (табл. 11) за счет соответствующей разницы в их поглощении растениями в период срезки роз (Silberbrush, 2003). Численность микромицетов в грунте варианта с обработками биопрепаратом даже через девять месяцев остается на порядок меньше, чем на контрольном варианте. Это говорит о том, что, несмотря на наличие тенденции возврата системы в первоначальное состояние, «оздоравливающий» эффект, достигнутый благодаря обработкам БП, остается. Однако отмечена тенденция к увеличению численности микромицетов − по сравнению с 2006 годом численность микромицетов на растениях, обработанных БП1, выросла в 10 раз (рис. 22).

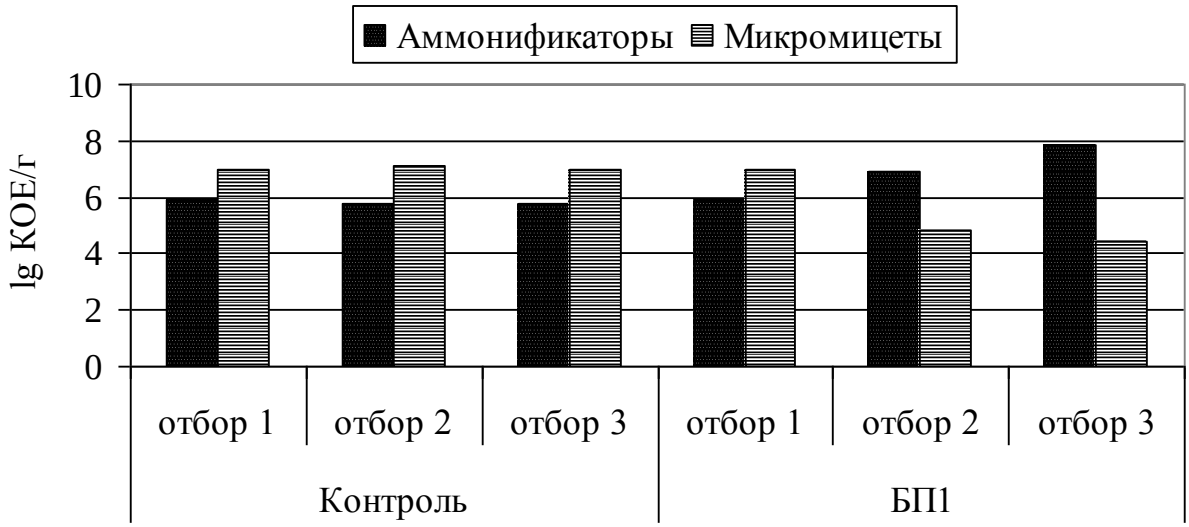

Рисунок 22. Численность микроорганизмов в грунте по вариантам опыта в 2006 году, lg КОЕ/г воздушно-сухого грунта.

Параллельно с изменением микробного сообщества в грунтах, шла его перестройка на поверхности листьев (эпифитных) и в тканях листьях роз (эндофитных) микроорганизмов (табл. 12). Эндофитными или эндофитами

называют микроорганизмы, живущие, по крайней мере, одну фазу своей жизни, в растительных тканях и формирующие с растениями своеобразные «внутренние» сообщества (Strobel, 2003).

Таблица 12. Численность эпифитных и эндофитных микроорганизмов на разных средах, КОЕ/г в пересчете на массу воздушно сухого листа

Варианты опыта	Даты отбора		Эпифитные		Эндофитные	
			1	2	1	2
Контроль	Прямое действие	Отбор 1	$1,6\times10^8$	$1,7\times10^7$	$3,6\times10^8$	$1,9\times 10^7$
		Отбор 2	$1,3\times10^8$	$1,8\times10^7$	$4,0\times10^8$	$1,3\times10^7$
		Отбор 3	$3,7\times10^8$	$2,7\times10^7$	$2,9\times10^8$	$4,5\times10^7$
	Последействие		$1,9\times10^8$	$2,5\times10^8$	н/о	н/о
БП1	Прямое действие	Отбор 1	$1,6\times10^8$	$1,7\times10^7$	$3,6\times10^8$	$1,9\times 10^7$
		Отбор 2	$2,3\times10^7$	$2,5\times10^8$	$2,9\times10^9$	$4,5\times10^8$
		Отбор 3	$2,0\times10^9$	$3,0\times10^7$	$3,4\times10^9$	$2,8\times10^7$
	Последействие		$7,0\times10^7$	$1,8\times10^8$	н/о	н/о

Примечание. 1 – питательный агар; 2 – среда Чапека-Докса, ошибка опыта не более 5 %.

При определении численности эпифитных и эндофитных (отбор 2) микроорганизмов на среде Чапека-Докса отмечено значительное (на порядок) увеличение КОЕ/г листа на варианте БП1, по сравнению с контролем. При этом, в образцах варианта БП1 в отличие от контрольного варианта, не наблюдали колоний микромицетов, в то время как на листьях контролmyjuj варианта патогенные грибы были обнаружены. Это означает, что чистая культура бацилл ингибирует рост грибов, вытесняя их из микробного сообщества. В дальнейшем (отбор 3) численность микроорганизмов на вариантах с обработкой и без нее выравнивается, что можно объяснить как возвращение эпифитного микробоценоза к исходному состоянию, но микромицетного поражения листьев на варианте БП1 также не было отмечено.

При обсуждении численности эпифитных и эндофитных микроорганизмов при посевах на питательный агар и среду Чапека-Докса, было обращено внимание на входящий в их состав органический субстрат. Так, в среде Чапека-Докса в качестве источника углерода содержится сахароза, в питательном агаре – пептон. Следовательно, в первом случае мы наблюдали динамику численности микроорганизмов, обладающих сахаролитической активностью, во втором – протеолитической активностью. Учитывая анализ приведенных выше данных можно заключить, что именно благодаря микроорганизмам, способным, как к гидролизу белков, так и простых углеводов, в частности, интродуцируемых нами бацилл, обладающих именно такой способностью (Определитель бактерий Берджи, 1997) и происходит перестройка микробного сообщества, и как результат, снижение инфицированности растений.

При определении численности эпифитных микроорганизмов в период последействия имеет, по-видимому, суксессионные отклонения от периода действия (сравнивали с данными после окончания опыта - отбор 3). Так, количество КОЕ/г сухих растений на среде Чапека-Докса на контрольном варианте, на порядок выше. На питательном агаре на этом варианте КОЕ/г сухого растения эпифитных микроорганизмов было в два раза меньше. На обработанном варианте – на среде Чапека-Докса, численность увеличивалась на порядок, а на питательном агаре – уменьшилась на два порядка. Следовательно, через 9 месяцев наблюдения численность эпифитных микроорганизмов возвращалась к исходному состоянию.

Изучение влияния фолиарной обработки растений БП показал, что после последней обработки растений численность микроорганизмов в 1 $м^3$ воздуха при посеве на питательном агаре и среде Чапека-Докса, где чашки располагались на грунте, составила на варианте БП1 – $2{,}4 \times 10^3$ и $2{,}1 \times 10^3$ КОЕ/$м^3$, соответственно. Таким образом, на растениях в варианте с применением БП количество выросших микроорганизмов было на порядок ниже, чем на контроле на двух используемых средах, что косвенно говорит об «оздоровлении» воздуха в теплице.

Таким образом, пятикратная обработка (с промежутком в 2 недели) растений роз БП на основе чистой культуры *Bacillus macerans* привела к значительному снижению численности или к полному исчезновению патогенных микромицетов *Penicillium* sp., *Cladosporium castellani* и *Exophiala* sp., из эпифитного, эндофитного и развивающегося в грунтах сообщества микромицетов, что снижало количество растений с визуальными признаками инфицирования в 8 раз. Фолиарная обработка роз изменяла микробоценозы, не только растений (как эпифитные, так и эндофитные), но и грунтов, что связано с распространением интродуцируемых бацилл в грунт с флоэмным током растений и корневыми выделениями. Исследование последействия применения бактериального препарата показало, что за 9 месяцев система «грунт-растение» стремится к возврату численности своего микробного сообщества на листьях роз. Однако, на варианте БП1 численность микромицетов в грунте остается на порядок меньше, чем на контроле. Таким образом, применение исследованного БП на основе бактерии *Bacillus macerans* с фунгицидной и хитиназной активностью для полного уничтожения фитопатогенных микромицетов требует постоянного, как минимум, пятикратного, применения фолиарной обработки с периодичностью раз в две недели всей площади теплицы, как превентивная мера защиты роз от микромицетной инфекции.

Глава 6. Изучение микробиологического статуса роз, окружающей среды их выращивания, эффективности применения фунгицидов в теплице. Результаты исследования состава микробного сообщества больных роз методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии

Определение чистоты воздуха в теплице по Омелянскому, проводили, ставя чашки Петри с Питательным агаром (ПА) и Чапеком-Докса

непосредственно на грунт и на уровне самой высокой точки куста роз. Исследования показали, что воздух в теплице загрязнеи спорами грибов, особенно на уровне грунтов, с увеличением высоты отбора воздуха, где есть пусть и незначительные воздушные потоки, численность микромицетов уменьшалась в два раза. Низ: ПА – 3,5 × 10^4 КОЕ/$м^3$, среда Чапека-Докса – 6,0× 10^4 КОЕ/$м^3$; верх: ПА – 3,5× 10^4 КОЕ/$м^3$, среда Чапека-Докса – 2,8× 10^4 КОЕ/$м^3$.

В качестве исследованных фунгицидов применяли используемые в «Ульяновском» препараты в рекомендованных производителем концентрациях: Сапроль 0,07%; Эупарен 0,1%; Превикур 0,1%; Топаз 0,05%; Фундазол 0,1%; Строби 0,4%; Рекс 0,02%; Родомил 0,1%; Фалькон 0,04%; Колфуго 0,07%; Квадрис 0,04%; Pentak 0,12%. Для определения чувствительности выделенных микроорганизмов к фунгицидам использовали метод дисков. Анализ полученных посевов по величине зон просветления вокруг дисков показал, что *Exophiala* sp. чувствителен только к пяти фунгицидам из двенадцати. Самая высокая чувствительность отмечена для фунгицида Рекс 0,02%. По чувствительности фунгициды располагаются в следующем порядке Рекс > Родомил > Фалькон, Эупарен > Превикур. В теплице все эти фунгициды используются по очереди, превентивная обработка проводится раз в две недели, если идет вспышка заболевания – два-три раза в неделю. Несостоятельность применения фунгицидов для борьбы с микромицетной инфекцией требует поиска других подходов для сохранения растений.

Одно из самых вредоносных заболеваний роз, вызывающее появление побегов с «обожженными макушками и уплощением стебля, вызываемое, как считается, грибом *Pestalotia adusta* – «пестолоция обугленная». При проникновении и дальнейшем размножении в розах этого патогена, происходит сплющивание верхней части стебля растения, вызывая их искривление, побурение и усыхание. Появляется фиолетовая окраска у основания бутона, сильное изменение цвета листовой пластины. Листья легко отрываются от стебля и опадают. Ущерб от болезни огромен: могут погибнуть все надземные части растения (Тревайс, 1998).

Для выявления фитопатогена, вызывающего это заболевание, использовали молекулярный метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Общая численность микроорганизмов в пробе здоровых стеблей в три раза больше, чем в больных. Снижение количества микроорганизмов произошло, в основном, за счет нескольких анаэробных и факультативно-анаэробных видов бактерий. В частности, в стеблях здоровых растений в четыре раза выше содержание *Clostridium* sp. и более чем в 20 раз – *Clostridium propionicum*, почти в 30 раз – *Peptostreptococcus* sp. Из аэробных видов существенное превышение в стеблях здоровых растений отмечено для *Nitrobacter* sp. (примерно в 30 раз), (*Corynebacterium* sp. (в 40 раз) и *Micrococcus* sp. (в 60 раз). В процентном отношении относительно

суммарной численности микроорганизмов наблюдается почти равное содержание анаэробных и факультативно-анаэробных видов, как в здоровых (67%), так и в больных (63%) стеблях роз. Следовательно, микробное сообщество изучаемых роз имело анаэробное видовое преимущество.

По биоразнообразию сообщество микроорганизмов на стеблях здоровых роз несколько богаче. Так, в здоровых стеблях было определено 32 вида бактерий, относящихся к 27 родам, в больных – несколько ниже (30 видов из 25 родов). Так, у больных растений не выявлены такие актиномицеты как *Streptomyces* sp. Учитывая антибиотические возможности этого вида, можно предполагать потерю защитных свойств растения, которое оно получает от сообщества эпифитных (не патогенных) микроорганизмов.

Суммарная численность микроскопических грибов в больных растениях была в два раза выше. Это позволяло предположить, что микромицеты – возможные возбудители «песталоции обугленной».

При сравнении количества простейших по данным ГХ-МС исследования показали, что количество этих микроорганизмов в шесть раз меньше в здоровых розах, чем в больных. Это позволило предположить, что именно простейшие – виновники заболевания.

Таким образом, анализ образцов методом ГХ-МС показал, что заболевание роз «песталоцией обугленной» могут вызывать простейшие или комплекс – простейшие и грибы. Простейшие, по микроскопированию культуральной жидкости «висячая капля», вероятнее всего жгутиконосцы класса *Mastigophora*, размером 50-200 мкм, а не грибы рода *Pestalotia*, как считалось ранее, что требует другой стратегии при «лечении» этого заболевания.

Глава 7. Исследование способности к укоренению черенков роз при применении бактериального препарата и индолилмасляной кислоты при выращивании в грунтах с разным содержанием органического вещества

Таблица 13. Влияние обработок черенков ИМК и БП на укоренение черенков роз и массу образовавшихся корней на разных грунтах (средние данные)

Грунт	Варианты опыта	Количество укоренившихся черенков, %	Сырая масса корней, г
ТПВ	Контроль	95	1,17
	ИМК	84	1,54
	БП	88	1,19
	ИМК + БП	94	1,56
	$НСР_{0,05}$	10	0,23
ТП	Контроль	91	1,36
	ИМК + БП	86	1,10
	$НСР_{0,05}$	6	0,21

*ИМК - индолилмасляная кислота (0,25%); БП - бактериальный препарат (суспензия *Alcaligenes* sp. 10^7 КОЕ/мл)

В опытах № 11 и 12 были определены условия, при которых увеличивается объем корневой системы и количество укоренившихся черенков.

Исследования показали, что корневую систему ИМК увеличивает только на более богатом торфом субстрате, БП на этот показатель никакого действия не оказывает. При укоренении черенков в грунте ТП, который активно применяется в теплице для посадки растений, опудривание ИМК никакого действия на корневую систему не оказывает, поэтому, в дальнейшем все наши исследования с предварительным черенкованием проводили на грунте ТП без применения каких-либо агрохимических средств (табл. 13). Содержание нитратного азота сильно отличалось в зависимости от состава грунтов. На варианте ТПВ оно составило 256-306 мг/кг, на варианте ТП – 68-90 мг/кг, фосфор и калий в этих опытах был в достаточном количестве (фосфор – около 300 мг/кг, калий – 350 мг/кг).

Выводы

1. Обработка роз бором или смесью микроэлементов (бор, медь и цинк) в двойной дозе относительно концентрации этих элементов в общепринятой смеси Хогланда (пятикратная обработка, один раз в две недели) увеличивала устойчивость растений к микромицетной инфекции. Получен акт о внедрении.
2. При достаточном обеспечении роз бором, концентрация цинка увеличивается в корнях и стеблях обработанных растений в два раза, что определяется взаимосвязанностью этих элементов через фенольный обмен растений. Фолиарное применение бора, без внесения меди, в медьдефицитных растениях приводит к угнетению активности полифенолоксидазы (фермента дыхательной цепи). По этой причине, на вариантах с обработкой растений борной кислотой в двойной дозе относительно концентрации этих элементов в общепринятой смеси Хогланда, растения не дают бутонов, в отличие от всех других вариантов опыта.
3. Фолиарная обработка растений бором, медью, суммой микроэлементов или салициловой кислотой повышает сумму органических кислот в стеблях роз в 3-10 раз. По теории Комеса, такое увеличение кислотности клеточного сока – один из путей поднятия пассивного иммунитета растений. Роль салициловой кислоты, как антистрессового соединения, проявляется наиболее заметно в состоянии теплового шока растений (при среднесуточной t выше 32° С), при этом повышается соотношение белкового азота к общему. При вегетации растений в условиях теплового шока идет интенсивное накопление меди и цинка в листовой пластине, в отличие от концентрирования этих элементов в корнях в условиях физиологически оптимальных температур для роз.
4. Выделенные из природных объектов (почва, поверхность речного песка и песка аэрируемых песколовок) бактериальные культуры (*Bacillus macerans*, 2 штамма *Bacillus circulans*, *Bacillus* sp. + *Corynebacterium* sp.), на основе

которых созданы бактериальные препараты, обладают силикатной, хитиназной и нитрогеназной активностью.

5. Наиболее значительное увеличение содержания водорастворимых форм фосфора, калия и кремния в торфогрунте (торф+перлит) отмечали на вариантах с диатомитом при внесении в него бактериальных культур *Bacillus* sp**. +** *Corynebacterium* sp. и *Bacillus circulans* штамм 2, до 25 раз для фосфора, в 10 – 15 раз для калия и в 5 раз для кремния. Эффективность мобилизации фосфора, калия, кремния в торфогрунте при внесении в него только диатомита, без биопрепаратов, была существенно ниже: содержание водорастворимых форм этих элементов увеличилось примерно в 2 раза.

6. Совместное внесение в торфогрунт биопрепаратов и диатомита повышало численность бактерий в грунте, вырастающих на силикатной среде, на 3-4 порядка и сапротрофов на 1,5 порядка, по сравнению с контрольным вариантом. По результатам исследования микробоценоза газовой хроматографией–масс-спектрометрией, переход фосфора, калия и кремния в торфогрунтах в водорастворимые формы при внесении в них биопрепаратов происходил как за счет стимуляции размножения автохтонных микроорганизмов, которые способны изменить кислотность среды на локальном уровне (*Acetobacterium* sp.), так и за счет ферментативной активности интродуцируемых бактерий.

7. Применение диатомита и биопрепаратов в системе грунт – растение способствовало сбалансированности минерального питания роз по соотношению основных питательных элементов – N:P:K = 4:1:5, что увеличило массу корней на обработанных вариантах до 10 раз и высоту растений более чем в два раза.

8. Метод укоренения черенков роз в герметично закрывающихся пакетах ZIP-LOCK с использованием торфогрунта ТП (1:3) обеспечивал следующие условия: формирование высокой влажности воздуха (90-100%) и грунта (80% ПВ) без применения специального оборудования и без затраты дополнительного труда на полив в течение периода укоренения. В результате герметичности пакета исключается вымывание питательных элементов из грунта, что не требует дополнительных подкормок в период укоренения и позволяет избежать попадания спор фитопатогенных микроорганизмов на черенок. Укореняемость составляла 84-95 %. Получен акт внедрения этой технологии в совхозе декоративного садоводства «Ульяновский», Московской области.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России для публикации основных результатов докторской диссертации

1. Сухая О.В., Верховцева Н.В**., Пашкевич Е.Б**., Мусатова Е.В., Андреев А.Г. Агроэкологические условия укоренения черенков роз в герметично закрывающихся пакетах // Агрохимия. – 2008 – № 9. – С. 55-58.

2. Сухая О.В., Верховцева Н.В., **Пашкевич Е.Б**., Яшков А.Б. Размножение черенков роз методом зеленного черенкования // Цветоводство. – 2008. – № 5. – С.26.

3. **Пашкевич Е.Б.**, Кирюшин Е.П. Роль кремния в питании растений и в борьбе с болезнями сельскохозяйственных культур // Проблемы агрохимии и экологии. – 2008. – №2. – С. 52-57.
4. **Пашкевич Е.Б.**, Слюсаревский А.В. К методике определения содержания бора в растениях фотометрическим методом с использованием кармина // Проблемы агрохимии и экологии. – 2009. – № 1. – С. 48-50.
5. **Пашкевич Е.Б**. Биологическое обоснование создания и особенности применения биопрепаратов, содержащих *Bacillus subtilis*, для защиты растений от фитопатогенов // Проблемы агрохимии и экологии. – 2009. – № 2. – С. 41-47.
6. Кирюшин Е.П., **Пашкевич Е.Б.**, Суворова Е.Е. Влияние силикатных бактерий и диатомита на питание роз в защищенном грунте // Проблемы агрохимии и экологии. – 2010. – №3. – С. 13-18.
7. **Пашкевич Е.Б**., Нейматов Е.Л., Шилова Н.В. Длительность действия бактериального препарата при фолиарной обработке роз в условиях закрытого грунта // Проблемы агрохимии и экологии. – 2011. – № 3. – С. 25-29.
8. **Пашкевич Е.Б.**, Суворова Е.Е., Верховцева Н.В. Физиолого-биохимические функции бора в растении // Агрохимия. – 2011. – № 11. – С. 85-96.
9. Kiryushin E.P., **Pashkevich E.B.,** Neymatov E.L., Seliverstova O.M. and Verkhovtseva N.V. Mobilization of Phosphorus, Potassium and Silicon in the Greenhouse Ground at Application of Bacterial Preparations // Journal of Agricultural Science and Technology. – 2011. – V. 1, №7. – P. 972-978.
10. **Пашкевич Е.Б**. Фолиарная обработка роз микроэлементами в условиях защищенного грунта как способ борьбы с фитопатогенами // Проблемы агрохимии и экологии. – 2012. – № 2. – С. 26-30.
11. **Пашкевич Е.Б.**, Нейматов Е.Л. Изучение взаимодействия роз сорта Flash Night и бактериальных препаратов в тепличном грунте // Агрохимия. – 2012. – № 7. – С. 57-61.
12. **Пашкевич Е.**, Суворова Е., Жданова В.Влияние салициловой и борной кислот на тепличные розы при сбалансированном минеральном питании // Цветоводство. – 2012. – № 4. – С. 10.
13. Суворова Е.Е., **Пашкевич Е.Б.**, Сидорова Е.А. Оптимальная и токсичная концентрации бора в растениях при фолиарной обработке роз в защищенном грунте // Проблемы агрохимии и экологии. – 2013. – № 3. – С. 12-15.

Статьи в сборниках и журналах, методические пособия

1. Верховцева Н.В., **Пашкевич Е.Б**. Идентификация возбудителя болезней роз методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии // Сборник научных трудов международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы иммунитета и защиты сельскохозяйственных культур от болезней и вредителей», Украина, г. Одесса: Изд-во СП-НЦНС, 2008. – С. 285-289.
2. Никифорова О.В., Мусатова Е.В., Верховцева Н.В., **Пашкевич Е.Б**. Метод защиты черенков роз при укоренении // Сборник научных трудов международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы иммунитета и защиты

сельскохозяйственных культур от болезней и вредителей», Украина, г. Одесса: Изд-во СП-НЦНС, 2008. – С. 8.
3. Верховцева Н.В., **Пашкевич Е.Б**., Кирюшин Е.П. К концепции устойчивого функционирования почв агроэкосистем. Международная научно-практическая конференция «Приемы повышения плодородия почв и эффективности удобрений», Беларусь, г. Горки, Материалы конференции. – 2007. – С. 68-71.
4. Верховцева Н.В., **Пашкевич Е.Б**. Методические указания к лабораторным занятиям для студентов университетов, специализирующихся по агрохимии Микробиологические показатели агроэкосистем. МГУ. – М.: Изд-во ВНИИА, 2007. – 28 с.
5. Верховцева Н.В., **Пашкевич Е.Б**., Кирюшин Е.П., Нейматов Е.Л. Значение бактериальных препаратов в регулировании минерального питания роз в закрытом грунте и устойчивости их к фитопатогенным микромицетам / В сб. Экологическая агрохимия [под ред акад. РАСХН Минеева В.Г.] – М.: Изд-во МГУ, 2008. – С.164-177.
6. **Пашкевич Е.Б**., Верховцева Н.В., Кирюшин Е.П., Нейматов Е.Л. Бациллярные культуры с хитиназной активностью, мобилизующие калий и фосфор, для защиты роз закрытого грунта от фитопатогенов. «Фундаментальные достижения в почвоведении, экологии, сельском хозяйстве на пути к инновациям: I Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием». – М.: МАКС Пресс, 2008. – С. 140-142.
7. Сухая О.В., Верховцева Н.В., **Пашкевич Е.Б**., Мусатова Е.В., Бельдяева К.Ю. Метод укоренения черенков роз в герметично закрывающихся пакетах. «Фундаментальные достижения в почвоведении, экологии, сельском хозяйстве на пути к инновациям: I Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием». – М.: МАКС Пресс, 2008. – С. 151-153.
8. Верховцева Н.В., **Пашкевич Е.Б**., Кирюшин Е.П., Нейматов Е.Л.Значение бактериальных препаратов в регулировании минерального питания роз а закрытом грунте и устойчивости их к фитопатогенным микромицетам / Сб.научных трудов «Экологическая агрохимия» под ред. В.Г. Минеева. – М.: Россельхозакадемия, 2008. – С.164-177.
9. Верховцева Н.В., **Пашкевич Е.Б.**, Кирюшин Е.П., Нейматов Е.Л. Бактериальные препараты, эффективные против фитопатогенных микромицетов в закрытом грунте / Сборник инновационных проектов факультета почвоведения МГУ, Москва, 2009 (информационно-рекламные материалы). – 56 с.
10. Сухая О.В., Верховцева Н.В., **Пашкевич Е.Б**. Метод укоренения черенков роз / Сборник инновационных проектов факультета почвоведения МГУ, Москва, 2009 (информационно-рекламные материалы). – 56 с.
11. **Пашкевич Е.Б.**, Нейматов Е.Л. Особенности минерального питания роз макроэлементами и микробиологические способы борьбы с фитопатогенами в условиях защищенного грунта / Сб. научных трудов «Экологическая агрохимия» [под ред. акад. В.Г. Минеева]. – М.: МГУ, 2011 – С. 199-218.