

На правах рукописи



Дорофеева Ольга Сергеевна

**ВЛИЯНИЕ БОРАНА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ
СЕЯНЦЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ**

03.00.12 – «Физиология и биохимия растений»

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2009

Работа выполнена в Учреждении Российской академии наук Институте леса Карельского научного центра РАН

Научный
руководитель

доктор биологических наук,
доцент
Чернобровкина Надежда Петровна

Официальные
оппоненты:

доктор биологических наук,
профессор
Медведев Сергей Семенович

кандидат биологических наук
Алексеева-Попова Наталья Вадимовна

Ведущая
организация

Петрозаводский государственный
университет

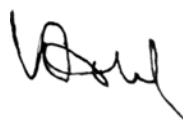
Защита состоится **20 мая 2009 г. в 14 часов** на заседании диссертационного совета Д 002.211.02 при Учреждении Российской академии наук Ботаническом институте им. В. Л. Комарова по адресу: 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2.

Тел. (812) 346-37-42, факс (812) 346-36-43

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ботанического института им. В. Л. Комарова Российской академии наук

Автореферат разослан 10 апреля 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



О. С. Юдина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Обеспечение растений элементами минерального питания (ЭМП) является важнейшим и, как правило, регулируемым фактором, определяющим рост и развитие растений. В северо-западном регионе России, в странах Скандинавии азот и бор являются дефицитными для активного роста растений, в том числе древесных (Wikner, 1983; Чернобровкина, 2001). Для стимуляции роста растений необходимо дополнительное обеспечение их этими ЭМП, что предполагает понимание механизмов использования их растениями. Закономерности использования азота хвойными растениями на примере сосны обыкновенной представлены в литературе (Новицкая, Чикина, 1980; Чернобровкина, 2001). Особенности использования бора растениями остаются до настоящего времени слабо изученными, несмотря на то, что исследуются уже многие годы.

До настоящего времени основной функцией бора в растениях считается его структурная роль в клеточных стенках (Matoh et al., 1992). Однако растет количество данных, свидетельствующих о возможной роли бора в других процессах, таких как участие в функционировании мембран, и других физиолого-биохимических функциях (Camacho-Cristobal et al., 2008). У травянистых растений обеспеченность бором оказывает влияние на процессы роста, формирование органов и тканей, включая клубнеобразование, на цветение и семеношение (Дроздов, 1956; Чернавина, 1970; Школьник, 1970, 1974; Микроэлементы..., 1976; Рудакова и др., 1987; Пузина, 2004). У древесных растений дефицит бора снижает интенсивность поглощения элементов питания, процессов фотосинтеза, роста, семеношения, снижает устойчивость к засухе, уменьшает число микоризных окончаний (Mitchell et al., 1987; Lehto, 1994; Brown, Shelp, 1997; Lehto et al., 2000; Чернобровкина, 2001; Mottonen et al., 2001; Ивонис, Чернобровкина, 2002). Предполагается участие азотных и липидных соединений в функциональной активности бора в растениях (Борщенко, 1970; Тимашов, 1968; Dugger, 1983). Исследование важнейших, определяющих интенсивность роста растений метаболитов – аминокислот и жирных кислот в органах хвойных растений в связи с обеспеченностью их бором ранее не проводилось.

Исследования, касающиеся роли бора в функциональной активности растений, проведены преимущественно на однодольных и двудольных травянистых растениях. Особенности использования бора хвойными растениями, в частности сосной обыкновенной, остаются недостаточно изученными. В условиях Северо-Запада России эта древесная порода является широко распространенной и хозяйственно ценной.

Доступность бора для растений зависит от почвенных условий (Wikner, 1983). Ежегодно из почвы лесных питомников с посадочным материалом

выносятся ЭМП. В открытом грунте лесных питомников, как правило, практикуется внесение в почву макроэлементов – азота, фосфора и калия. В результате нарушается баланс ЭМП, почва обедняется микроэлементами, особенно важнейшим для жизни растений – бором (Чернобровкина, 2001). Это приводит к необходимости внесения этого элемента в почву лесных питомников при выращивании посадочного материала. В целях рационального и эффективного его применения необходимо изучение закономерностей использования бора сеянцами древесных растений с учетом условий минерального питания. Эти исследования позволяют выявлять пути решения существующей в настоящее время проблемы диагностики обеспечения бором древесных растений.

Цель и задачи исследований: Целью исследований было выявить влияние обеспеченности бором сеянцев сосны обыкновенной на их рост, содержание азотных и липидных соединений в хвое.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1) определить содержание и локализацию бора в органах сеянцев сосны обыкновенной в связи с их обеспеченностью элементами минерального питания;

2) исследовать влияние обеспеченности бором сеянцев сосны на их рост и определить уровень микроэлемента в хвое, при котором отмечается максимальная интенсивность роста растений;

3) выявить влияние бора на содержание общего, белкового, небелкового азота и свободных аминокислот в хвое;

4) провести анализ содержания липидов, жирных кислот суммарных липидов в хвое сеянцев сосны обыкновенной в зависимости от обеспечения бором растений;

5) исследовать влияние неблагоприятного борного питания на рост сеянцев сосны и содержание азотных и липидных соединений в хвое.

Научная новизна. Впервые исследована локализация бора в органах хвойного растения в связи с его физиологическим состоянием и обеспеченностью ЭМП. Выявлены особенности изменения уровня метаболитов азотного и липидного обменов у сосны обыкновенной на ранних этапах онтогенеза в зависимости от обеспеченности бором. По результатам исследования ростовой активности сеянцев сосны, содержания азотных и липидных соединений в хвое определены особенности ответной реакции хвойного растения на оптимальный, дефицитный и токсичный уровни обеспеченности бором.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на научных мероприятиях: на международной молодежной конференции (Архангельск, июнь 2003), V съезде общества физиологов

растений России (Пенза, сентябрь 2003), международной конференции: “Физиологические и молекулярно-генетические аспекты сохранения биоразнообразия”, Годичном собрании общества физиологов растений России (Вологда, сентябрь 2005), конференции: “Структурно-функциональные особенности биосистем Севера (особи, популяции, сообщества)” (Петрозаводск, сентябрь 2005), международной конференции: “Современная физиология растений: от молекул до экосистем” (Сыктывкар, июнь 2007).

Научные публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано 10 работ, 2 из них – в рецензируемых журналах.

Личный вклад автора: Автором выполнены основные работы по сбору, химическому анализу азотных и липидных соединений в хвое, обработке материала, проведен математический анализ, систематизация и интерпретация экспериментальных данных. Все работы по полевым, химическим исследованиям выполнены лично автором или при его непосредственном участии.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов и списка литературы, включающего 231 наименование (в том числе 78 – на иностранных языках). Работа изложена на 144 страницах основного текста, включает 9 таблиц и 11 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Объект исследования – двулетние сеянцы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) Исследования проводили в условиях южной части Карелии на базе лесопитомнического комплекса “Вилга” Петрозаводского лесхоза. На этой территории распространены подзолы и сильно-подзолистые почвы, которые принадлежат к грубым по механическому составу и бедным по содержанию ЭМП почвам (Чернобровкина, 2001). Супесчаные почвы питомника характеризовались оптимальной для роста сеянцев хвойных растений кислотностью – рН 5.2, для интенсивного роста сеянцев сосны эти почвы бедны ЭМП. Содержание азота составило 0.12% от сухой почвы, фосфора – 0.12, калия – 0.04, кальция – 0.27, бора – 0.0007, меди – 0.003, марганца – 0.016, цинка – 0.002, кобальта – $3 \cdot 10^{-4}$ и молибдена – $1 \cdot 10^{-5}$ % от сухой почвы. Исследовали влияние внесения различных доз борной кислоты в почву на рост сеянцев и содержание азотных и липидных соединений в хвое при выращивании растений в естественных условиях лесного питомника (без внесения ЭМП). Этот фон минерального питания принимали за низкий на основании ранее проведенных исследований (Чернобровкина, 2001). Также изучали

влияние различной обеспеченности бором сеянцев на их рост на фоне оптимального уровня содержания ЭМП в почве. Условия оптимального фона минерального питания для роста сеянцев были выявлены ранее (Чернобровкина, 2001).

Схемы экспериментов. В мае было заложено 8 вариантов опыта. Для каждого варианта выбран изолированный участок площадью 1.5 м^2 в 3-х повторностях. Варианты опыта отличались дозой вносимого в почву бора и общим фоном минерального питания. В первую половину вегетационного периода (5.06, 24.06, 15.07) вносили бор в виде борной кислоты в семи дозах – 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 кг га^{-1} . Для создания оптимального фона минерального питания трижды за период вегетации в почву вносили аммиачную селитру (180 кг га^{-1}), суперфосфат двойной (200 кг га^{-1}), калий сернокислый (140 кг га^{-1}), сульфаты марганца (7 кг га^{-1}), цинка (4 кг га^{-1}), меди (2.5 кг га^{-1}), нитрат кобальта (2.1 кг га^{-1}), молибденовокислый аммоний (5.7 кг га^{-1}). Контролем для 7 вариантов опыта служили соответствующие по уровню питания участки, в почву которых не вносили бор. В течение вегетационного периода поддерживали оптимальный уровень кислотности почвы (рН 5.0), проводили рыхление и полив. Спустя неделю (22.07.) после проведения последней подкормки сеянцы естественного (низкого) фона минерального питания отбирали для анализа азотных и липидных соединений в хвое. Хвою фиксировали с использованием лиофильной сушилки и размалывали на электрической мельнице. У сеянцев, выращиваемых на двух фонах минерального питания, в июле (22.07) и октябре (15.10) определяли сухую массу и содержание бора в органах.

Методы исследований

В почве азот определяли с помощью общепринятого метода Кьельдаля, фосфор – фотоколориметрическим методом на спектрофотометре КФК-3, калий – пламенно-фотометрическим методом (Аринушкина, 1970). Анализ остальных ЭМП проводили с помощью атомно-абсорбционного метода на спектрофотометре ASC-6100 (“Shimadzu”, Япония) (Козлов, Кистерная, 2001). Для определения сухой массы сеянцев использовали в каждом варианте эксперимента по 100 растений. Содержание бора в сеянцах и почве определяли на спектрофотометре КФК-3 с применением реактива азометина производства Германии (Иготти, 2002). Общий и белковый азот в хвое определяли фотоэлектроколориметрически по общепринятой методике мокрого озоления в H_2SO_4 и H_2O_2 с нейтрализацией 30%-ным раствором NaOH и добавлением реактива Несслера (Щетинина, Бутенко, 1957). Извлечение аминокислот из тканей осуществляли по методу Плешкова (Плешков, 1976).

Аминокислотный состав хвои определяли с помощью автоматического аминокислотного анализатора ААА-339. Перед введением в анализатор упаренный экстракт растворяли в цитрат-литиевом буфере (рН 2.2). Идентифицировали аминокислоты по времени удерживания аминокислоты на сорбенте. Перед анализом проводили калибровку прибора путем разделения стандартной смеси аминокислот, содержащей по 2,5 мкл каждой из них в 1 мл стандартного раствора. Для каждой из аминокислот рассчитывали среднюю (из трех измерений) площадь регистрируемого сигнала, приходящуюся на 1 нм, и получали константы для количественной оценки содержания аминокислот в опытных образцах. Общее содержание аминокислот высчитывали суммированием.

Суммарные липиды (СЛ) экстрагировали по методу Folch с соавторами (Folch et al., 1957). Жирные кислоты (ЖК) превращали в их метиловые эфиры переэтерификацией липидов метанолом в присутствии ацетилхлорида и разделяли на газо-жидкостном хроматографе «Chrom-5» с пламенно-ионизационным детектором. Идентификацию жирных кислот осуществляли путем сравнения с заведомыми образцами их метиловых эфиров, а также сопоставлением эквивалентной длины цепи эфиров с табличными данными (Jamieson, 1975). Концентрации индивидуальных жирных кислот рассчитывали как произведение высоты пиков эфиров на хроматограммах на время удерживания (Столяров, Савинов, 1978). Для оценки ненасыщенности ЖК в липидах использовали индекс ненасыщенности $ИН = \frac{\sum P_j}{n} \cdot 100$, где P_j – содержание ненасыщенных жирных кислот (% от суммы), n – количество двойных связей в каждой кислоте.

Обработка экспериментальных данных: Использовали стандартные методики, основанные на офисных программах Microsoft Excel 2000. Полученные данные выражали в виде средней арифметической и стандартной ошибки. Достоверность различий между контролем и опытом оценивали по критерию Стьюдента при доверительном уровне $p_1=95\%$. Количество независимых биологических повторностей – 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние обеспеченности бором семян сосны обыкновенной на их рост в различных условиях минерального питания

Содержание бора в органах семян сосны

В условиях лесного питомника при естественном содержании бора в почве 0.0007% от сухой массы (контроль) уровень его содержания у семян сосны обыкновенной второго года жизни в расчете на

единицу сухого вещества практически не различался по фенофазам (период роста и после его окончания), а также по органам растения и составлял в хвое до 14 мг кг^{-1} сухого вещества, стеблях – до 15.1 , корнях – до 12 , – почках – до 12 мг кг^{-1} сухого вещества (рис. 1). В зависимости от наличия бора в почве и от условий минерального питания сеянцев содержание бора в их органах варьировало в широком диапазоне – от 6 ± 0.5 до $664 \pm 53.1 \text{ мг кг}^{-1}$ сухого вещества. В расчете на орган растения большая часть бора локализовалась в хвое контрольных растений и растений всех вариантов эксперимента – до 91% бора, содержащегося в растении. Значительно меньше содержалось бора в стеблях – до 40 %, в корнях – до 38, в почках – до 3% общего содержания в растении. При различных условиях минерального питания содержание бора в хвое наиболее показательно свидетельствовало об изменении борного обеспечения сеянцев. Это дает основание использовать хвою для отработки способов диагностики обеспеченности бором хвойного растения.

Влияние бора на рост сеянцев сосны

В октябре сухая масса сеянцев сосны в контроле повышалась в условиях оптимального фона минерального питания по сравнению с низким на 155% (рис. 2). В условиях низкого и оптимального фонов минерального питания внесение бора в почву повышало массу сеянцев соответственно на 29 и 57% по сравнению с контролем. На низком фоне минерального питания доза борной кислоты, максимально стимулирующая рост растений, была 1 кг га^{-1} , на оптимальном фоне – 10 кг га^{-1} .

При использовании максимально стимулирующей рост сеянцев дозы борной кислоты в условиях низкого фона минерального питания содержание бора в хвое в июле составляло 47 мг кг^{-1} сухого вещества. Однако дальнейшее накопление бора в органах сеянцев этого варианта приводило к тому, что к осеннему периоду его содержание в хвое достигало уровня 131 мг кг^{-1} сухого вещества, при котором не отмечалась стимуляции роста растений по сравнению с контролем. При более низкой дозе внесения борной кислоты в почву (1 кг га^{-1}) к осеннему периоду содержание бора в хвое составляло 115 мг кг^{-1} сухого вещества и при этом отмечалась максимальная стимуляция роста растений. Таким образом, в октябре в вариантах низкого фона минерального питания не отмечалось больших различий в содержании бора в хвое сеянцев с различной массой. В литературе имеются указания на то, что бор положительно влияет на рост растений в узком диапазоне уровня его в органах растений, и оптимальная концентрация бора в растениях близка к токсичной (Berger, 1949).

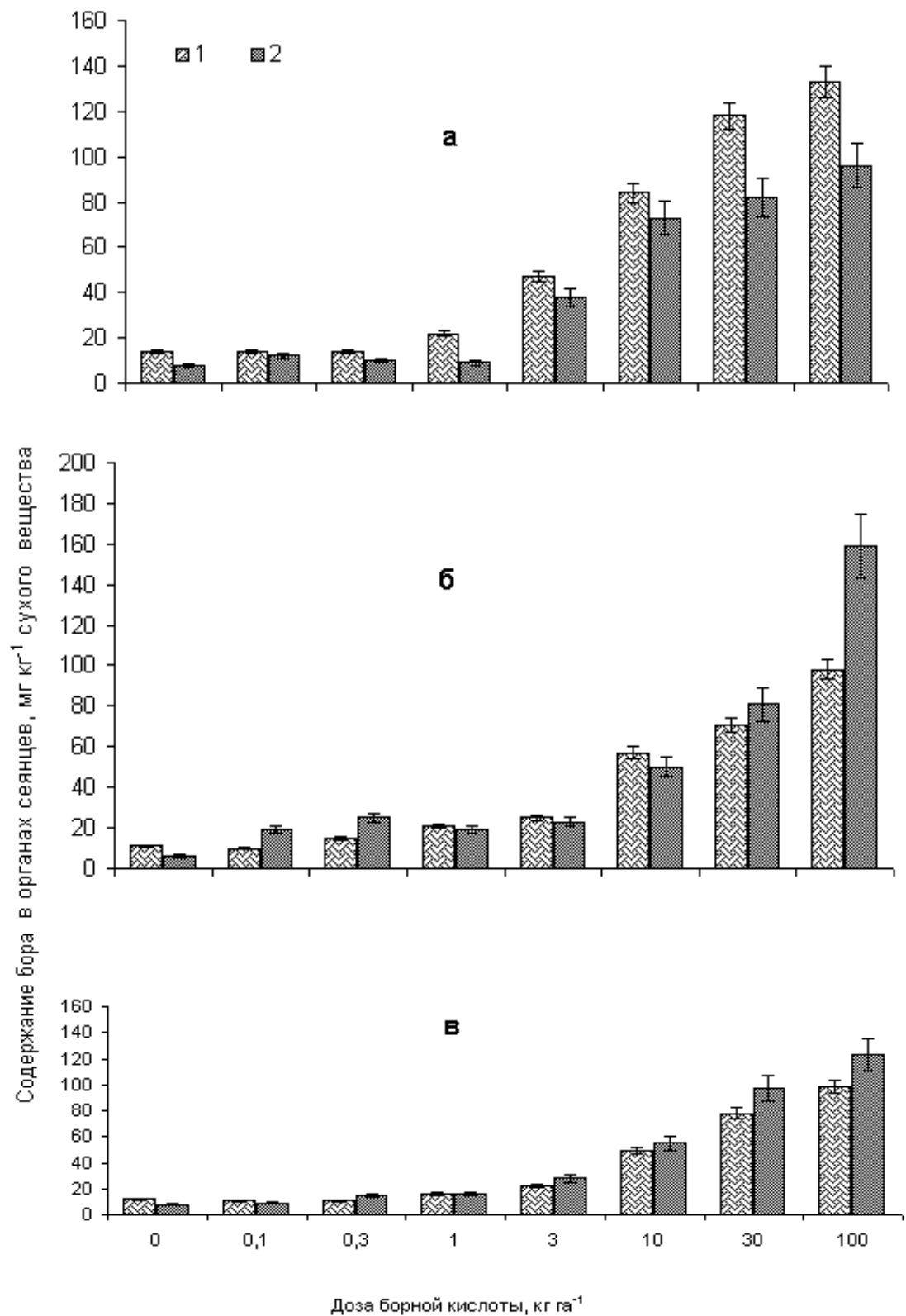


Рис. 1. Содержание бора в органах 2-летних сеянцев сосны обыкновенной в зависимости от внесения в почву бора в различных дозах на двух фонах минерального питания. 1 – низкий фон минерального питания; 2 – оптимальный; а - хвоя; б- стебли; в - корни

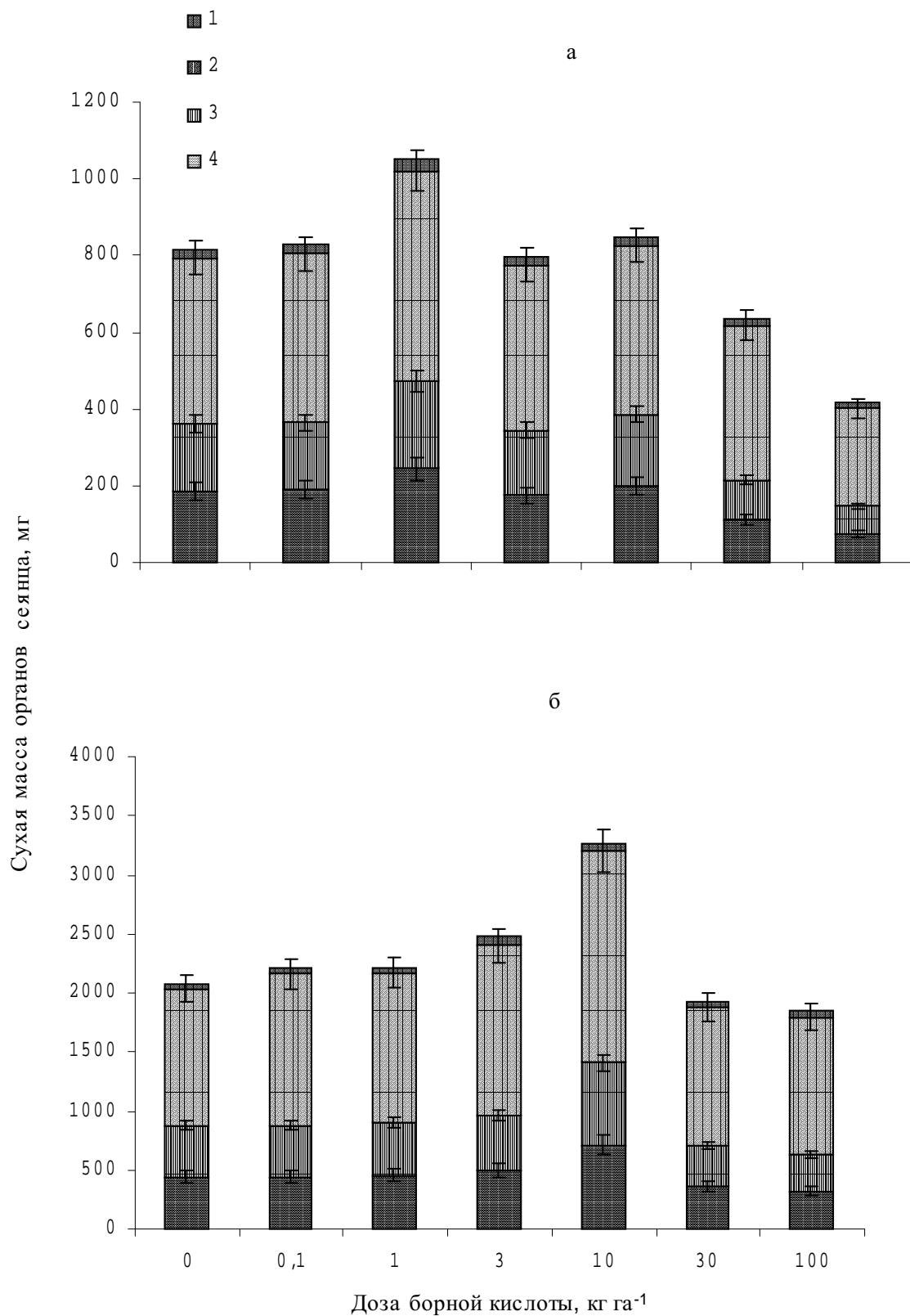


Рис. 2. Масса 2-летних сеянцев сосны обыкновенной в зависимости от внесения в почву бора в различных дозах на двух фонах минерального питания. Октябрь.
 а – низкий фон минерального питания; б – оптимальный; 1 – почки; 2 – хвоя; 3 – стебли; 4 – корни

Содержание бора в органах сеянцев, при котором отмечалась максимальная интенсивность роста растений, на разных фонах минерального питания было различно. В связи с этим этот показатель не может быть использован для диагностики обеспеченности сеянцев хвойных растений бором. Так, на низком фоне минерального питания у сеянцев с наибольшей массой содержание бора в хвое в июле и октябре составляло соответственно 47 и 115 мг кг⁻¹ сухого вещества, а на оптимальном – соответственно 73 и 32 мг кг⁻¹ сухого вещества. Следовательно, при использовании максимально стимулирующих рост растений доз борной кислоты в условиях низкого фона минерального питания при переходе от летнего к осеннему периоду происходило повышение уровня содержания бора в хвое в расчете на единицу сухого вещества, а в условиях оптимального фона минерального питания, напротив, его снижение. Это объясняется “эффектом разбавления” в результате интенсивного роста растений при высоком обеспечении их ЭМП. В расчете на одно растение содержание бора в хвое к октябрю увеличивалось как у сеянцев низкого, так и оптимального фонов минерального питания (табл. 1). Повышение уровня обеспеченности сеянцев ЭМП снижало содержание бора в органах, стимулировало закрепление бора корнями и ингибировало – хвоей к осеннему периоду. На двух фонах минерального питания дозы борной кислоты в 30 и 100 кг га⁻¹ оказались токсичными для сеянцев сосны – хвоя окрашивалась в желто-бурый цвет. Токсичное влияние высоких доз бора на рост сеянцев сосны более значительно проявлялось в условиях низкого фона минерального питания по сравнению с оптимальным.

Таблица 1

Содержание бора в органах сеянцев сосны обыкновенной в связи с их обеспеченностью бором в различных условиях минерального питания, мг. Октябрь

Доза борной кислоты, кг га ⁻¹	Почки	Хвоя	Стебли	Корни	Сеянец
0	0.2±0.01 *	6.0±0.5	5.0±0.4	1.6±0.1	12.6±1.1
	0.5±0.04 **	16.2±1.3	6.3±0.5	4.4±0.4	26.9±2.3
0.1	0.3±0.03	8.4±0.7	3.1±0.2	2.0±0.2	13.5±1.2
	0.6±0.05	14.1±1.1	6.2±0.5	7.0±0.6	27.3±2.5
0.3	0.3±0.02	8.3±0.7	3.5±0.3	2.0±0.1	13.8±1.1
	0.6±0.05	12.9±0.9	6.5±0.5	6.1±0.5	25.5±2.2
1	0.6±0.05	63.0±5.8	4.0±0.3	3.6±0.3	70.6±6.7
	0.8±0.06	21.5±1.8	7.1±0.6	6.9±0.6	35.5±2.9
3	0.5±0.04	56.4±4.9	5.4±0.4	3.2±0.2	65.0±5.8
	1.7±0.2	47.3±3.8	9.6±0.7	8.3±0.7	65.2±5.9
10	0.6±0.05	84.6±8.3	10.8±0.9	6.0±0.5	95.4±8.7
	1.7±0.1	57.2±5.0	28.2±2.5	51.5±4.8	136.9±12.3
30	0.6±0.05	173.4±15.4	8.6±0.7	4.2±0.3	186.2±16.4
	1.5±0.1	80.9±7.9	23.2±1.9	31.3±3.0	135.4±12.2
100	1.2±0.1	118.4±10.6	8.0±0.6	3.2±0.3	129.6±11.9
	2.5±0.2	147.2±13.4	37.7±3.2	32.1±2.8	217.0±20.4

*В условиях низкого фона минерального питания

** В условиях оптимального фона минерального питания

Содержание азота и свободных аминокислот в хвое сеянцев сосны обыкновенной в связи с обеспеченностью бором

При оптимизации борного обеспечения сеянцев сосны происходило повышение содержания общего, белкового, небелкового азота в хвое соответственно в 1.2, 1.17 и 2.0 раза (табл. 2). При недостатке бора у растений отмечалось снижение содержания белка, повышение количества небелкового азота, накопление аммиачного азота (Schropp, Arenz 1938; Борщенко, 1970; Школьник, 1970, 1974; Dugger 1983). В контроле (без внесения бора в почву) сумма свободных аминокислот в хвое составила 818 ± 76 мкг г⁻¹ сухого вещества. В составе свободных аминокислот хвои определены 20 аминокислот (рис. 3). В наибольшем количестве содержались глутаминовая кислота (15% от суммы аминокислот) и аргинин (12%) (табл. 3). Аминокислоты хвои сеянцев сосны в июле, в период активного роста, были представлены характерными для хвойных растений аминокислотами, особенностью которых является высокое содержание глутаминовой кислоты и аргинина (Чернобровкина, 2001).

Таблица 2

Содержание различных форм азота в хвое сеянцев сосны обыкновенной в связи с обеспеченностью бором

	Доза борной кислоты, г м ⁻²		
	0	0,1	10
Содержание общего азота в хвое, % от сухого вещества	$1,8 \pm 0,15$	$2,2 \pm 0,19$	$1,6 \pm 0,14$
Содержание белкового азота в хвое, % от сухого вещества	$1,7 \pm 0,1$	$2 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,1$
Содержание небелкового азота в хвое, % от сухого вещества	$0,1 \pm 0,01$	$0,2 \pm 0,02$	$0,1 \pm 0,01$

При оптимизации борного питания сеянцев сосны содержание суммы и большинства аминокислот в хвое увеличивалось. Вероятно, происходила интенсификация их синтеза, поскольку содержание белкового азота повышалось. Отмечалась тенденция к снижению содержания пролина, лейцина и орнитина, а уровень лизина, фенилаланина, глицина и гистидина при этом снижался. Снижение уровня аминокислот в хвое, по-видимому, связано со стимуляцией бором включения их в состав азотсодержащих соединений. Можно предположить, что бор стимулировал включение фенилаланина в фенольные соединения, поскольку эта аминокислота является предшественником при биосинтезе фенолов растений (Neish, 1964), и при оптимизации борного питания сеянцев сосны отмечалось повышение уровня фенольных соединений в хвое, а также устойчивости растений к фацидиозу (Ялынская, Чернобровкина, 2008).

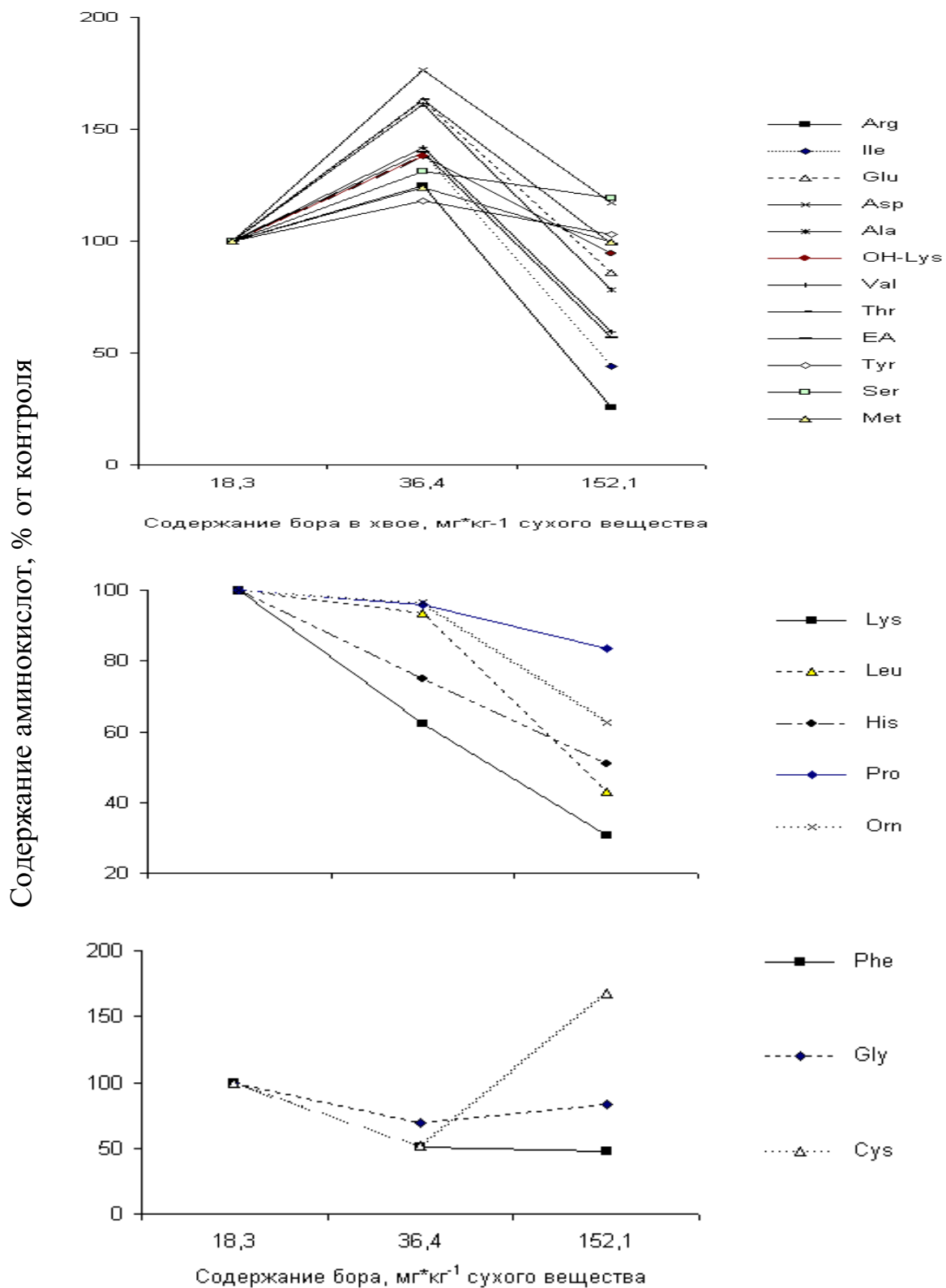


Рис. 3. Влияние обеспеченности бором семян сосны обыкновенной на содержание аминокислот в хвое

Таблица 3

Содержание свободных аминокислот в хвое сеянцев сосны обыкновенной в связи с обеспеченностью бором (мкг г⁻¹ сухого вещества)

Аминокислота	Содержание бора в хвое, мг кг ⁻¹ сухого вещества		
	18,3	36,4	152,1
(Glu) глутаминовая кислота	125 ± 11	203 ± 18	107 ± 10
(Arg) аргинин	103 ± 9	128 ± 11	27 ± 2
(Lys) лизин	64 ± 6	40 ± 4	20 ± 2
(OH-Lys) OH - лизин	56 ± 5	77 ± 7	53 ± 5
(Ala) аланин	54 ± 5	87 ± 8	42 ± 4
(Phe) фенилаланин	51 ± 4	26±2	24 ± 2
(Asp) аспарагиновая кислота	50 ± 4	89 ± 8	59 ± 5
(Pro) пролин	49 ± 4	47 ± 4	41 ± 3
(Leu) лейцин	47 ± 4	44 ± 4	20 ± 2
(Ser) серин	40 ± 3	53 ± 5	48 ± 5
(Gly) глицин	34 ± 3	23 ± 2	28 ± 2
(His) гистидин	33 ± 3	25 ± 2	17 ± 2
(Val) валин	31 ± 3	44 ± 4	18 ± 2
(Thr) треонин	23 ± 2	37 ± 4	23 ± 2
(Ile) изолейцин	19 ± 2	26 ± 2	8 ± 0,7
(Cys) цистин	11 ± 1	6 ± 0,5	19 ± 2
(EA) этаноламин	11 ± 1	15 ± 1	6 ± 0,5
(Tyr) тирозин	9 ± 1	10 ± 1	9 ± 1
(Orn) орнитин	7 ± 0,6	7 ± 0,6	5 ± 0,4
(Met) метионин	1 ± 0,1	7 ± 0,6	5 ± 0,4
Сумма	818	994	579

При токсичной дозе борной кислоты отмечалось снижение уровня исследуемых форм азотных соединений в хвое. При этом сумма свободных аминокислот в хвое сеянцев снижалась в 1,41 раза по сравнению с вариантом низкого обеспечения бором растений и в 1,71 раза по сравнению с вариантом оптимального борного обеспечения. При токсичной дозе борной кислоты по сравнению с вариантом оптимального обеспечения бором сеянцев отмечалось снижение содержания свободных аминокислот в хвое за исключением цистеина. Поскольку отмечалось понижение содержания исследуемых форм азота и большинства свободных аминокислот можно предположить, что происходила активация распада аминокислот в хвое и снижение интенсивности их синтеза. Исключением оказался цистеин, уровень которого повышался. Известно, что цистеин входит в состав лигандов – фитохелатинов и металлотионеинов, участвующих в детоксикации тяжелых металлов в результате образования с ними хелатов (Clemens et al., 2002; Haydon, Cobbett, 2007). Цистеин составляет 30% от

входящих в состав металлотионеинов аминокислот (Hamer, 1986; Robinson et al., 1993). Механизм действия отмеченных лигандов заключается в связывании тяжелых металлов сульфгидрильными группами цистеина (Grill et al., 1985; Zenk, 1996). Наряду с различными способами детоксикации тяжелых металлов растениями (Титов и др., 2007), связывание металлов фитохелатинами является наиболее важным не специфичным механизмом их детоксикации (Серегин, 2001; Clemens, Simm, 2003). Наши данные позволяют предположить, что накопление цистеина в хвое при высокой концентрации бора в сеянцах сосны является адаптивной реакцией хвойного растения на токсичное влияние бора.

Влияние обеспеченности бором на жирнокислотный состав суммарных липидов хвои сеянцев сосны обыкновенной

Состав жирных кислот суммарных липидов хвои контрольных сеянцев сосны обыкновенной. В составе суммарных липидов хвои было обнаружено 20 видов жирных кислот, которые в зависимости от степени ненасыщенности представляли собой моно-, ди-, три- и тетраеновые жирные кислоты. В наибольшем количестве была представлена линоленовая кислота ($C_{18:3}$), которая составляла 48.5% от суммы жирных кислот хвои. Уровни линолевой ($C_{18:2}$) и пальмитиновой ($C_{16:0}$) кислот имели близкие значения и составляли соответственно 16.9 и 16.7 % от суммы жирных кислот хвои. Остальные жирные кислоты содержались в значительно меньшем количестве. В суммарных липидах присутствовали восемь жирных кислот с короткой углеродной цепью ($C_{10} - C_{14}$). В составе ненасыщенных жирных кислот преобладали триеновые, содержание которых составляло 51.8 % от суммы жирных кислот. Содержание диеновых и моноеновых жирных кислот в суммарных липидах хвои было ниже – 21.4 и 7.6 % от суммы жирных кислот, соответственно.

Состав жирных кислот суммарных липидов хвои сеянцев сосны при оптимальной обеспеченности бором

Дополнительное обеспечение бором растений способствовало снижению содержания липидных соединений в хвое (до 54 ± 4 мкг $г^{-1}$ сухого вещества, при 156 ± 13 мкг $г^{-1}$ – в контроле). Одной из причин последнего могло быть стимулирование бором использования липидов при изменении активности ростовых процессов. Внесение под сеянцы первых трех доз борной кислоты способствовало повышению в хвое уровня насыщенных ЖК при соответствующем понижении уровня ненасыщенных ЖК и индекса ненасыщенности жирных кислот (ИН ЖК) (рис. 4). Повышение содержания суммы насыщенных ЖК было обусловлено преимущественно повышением уровня пальмитиновой ($C_{16:0}$) кислоты. Снижение доли ненасыщенных ЖК было обусловлено снижением содержания триеновых ЖК – преимущественно линоленовой ($C_{18:3}$) и гексадекатриеновой ($C_{14:3}$) (рис. 5, 6). Содержание моноеновых и

диеновых ЖК в хвое увеличивалось. Стимулирующие рост сеянцев дозы бора снижали содержание короткоцепочечных ЖК в хвое, что, возможно, было связано с включением их в синтез других ЖК (рис. 6). Закономерности изменения уровня ЭМП в липидном обмене растений в связи с интенсивностью роста остаются недостаточно изученными (Жила и др., 2005).

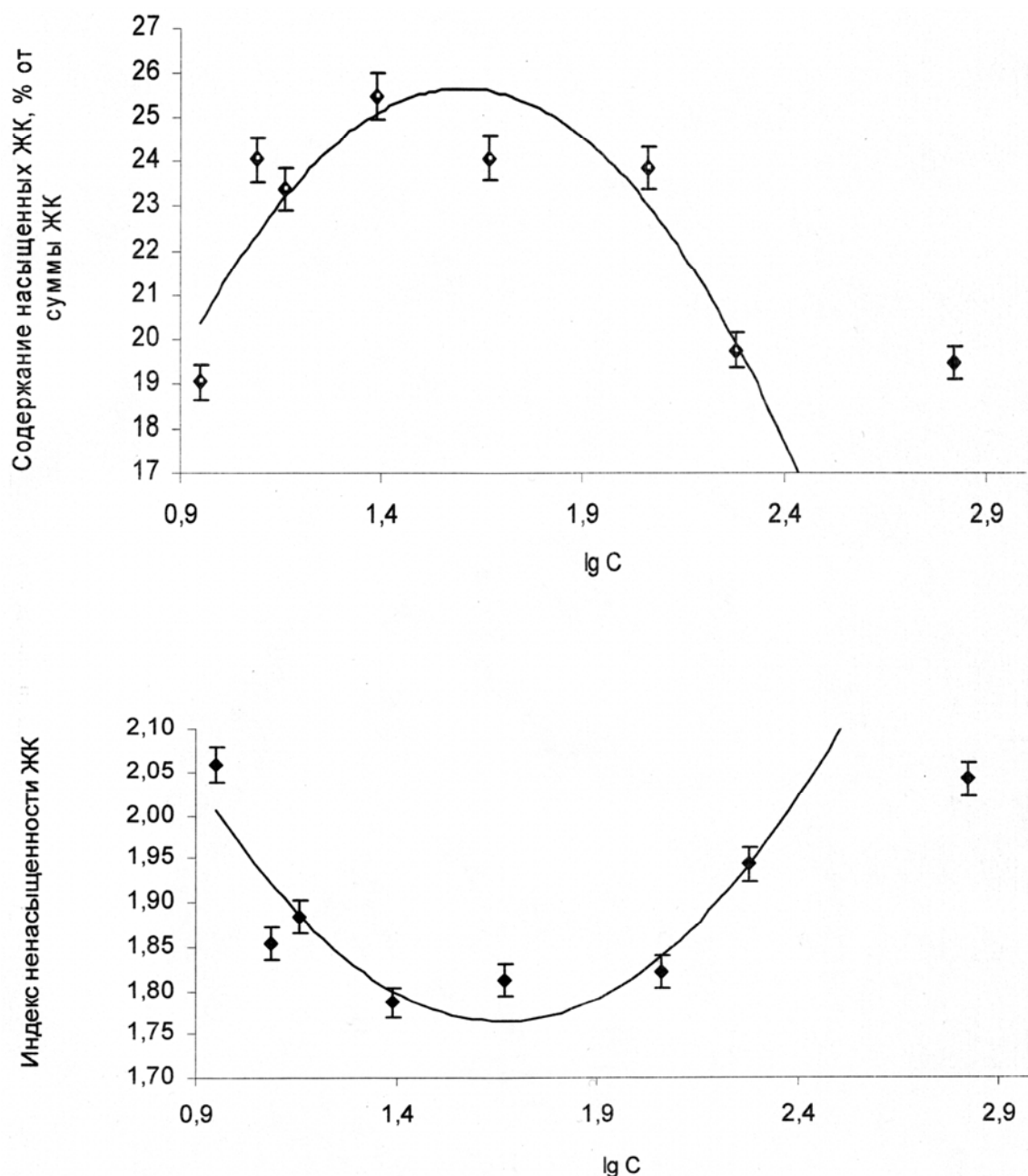


Рис. 4. Содержание насыщенных и индекс ненасыщенности ЖК суммарных липидов хвои сеянцев сосны обыкновенной в связи с обеспеченностью бором. Содержание ЖК хвои в % от суммы ЖК. lg C - логарифмическая шкала концентраций бора (C) в хвое, мг кг⁻¹ сухого вещества

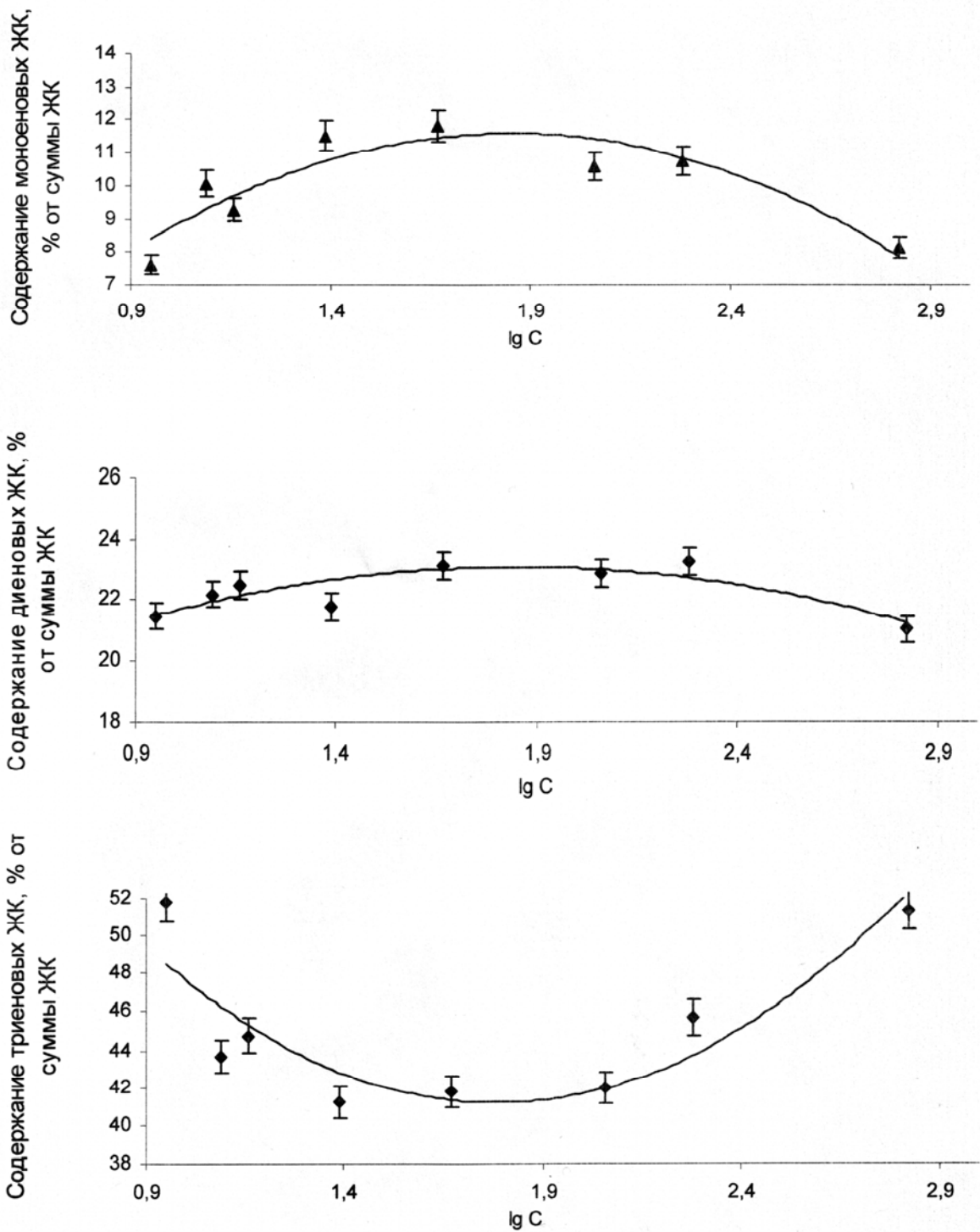


Рис. 5. Содержание суммы моноароматических, диароматических, и триароматических ЖК в хвое сеянцев сосны обыкновенной в связи с обеспеченностью бором.

lg C – логарифмическая шкала концентрации бора (C) в хвое, мг кг^{-1} сухого вещества

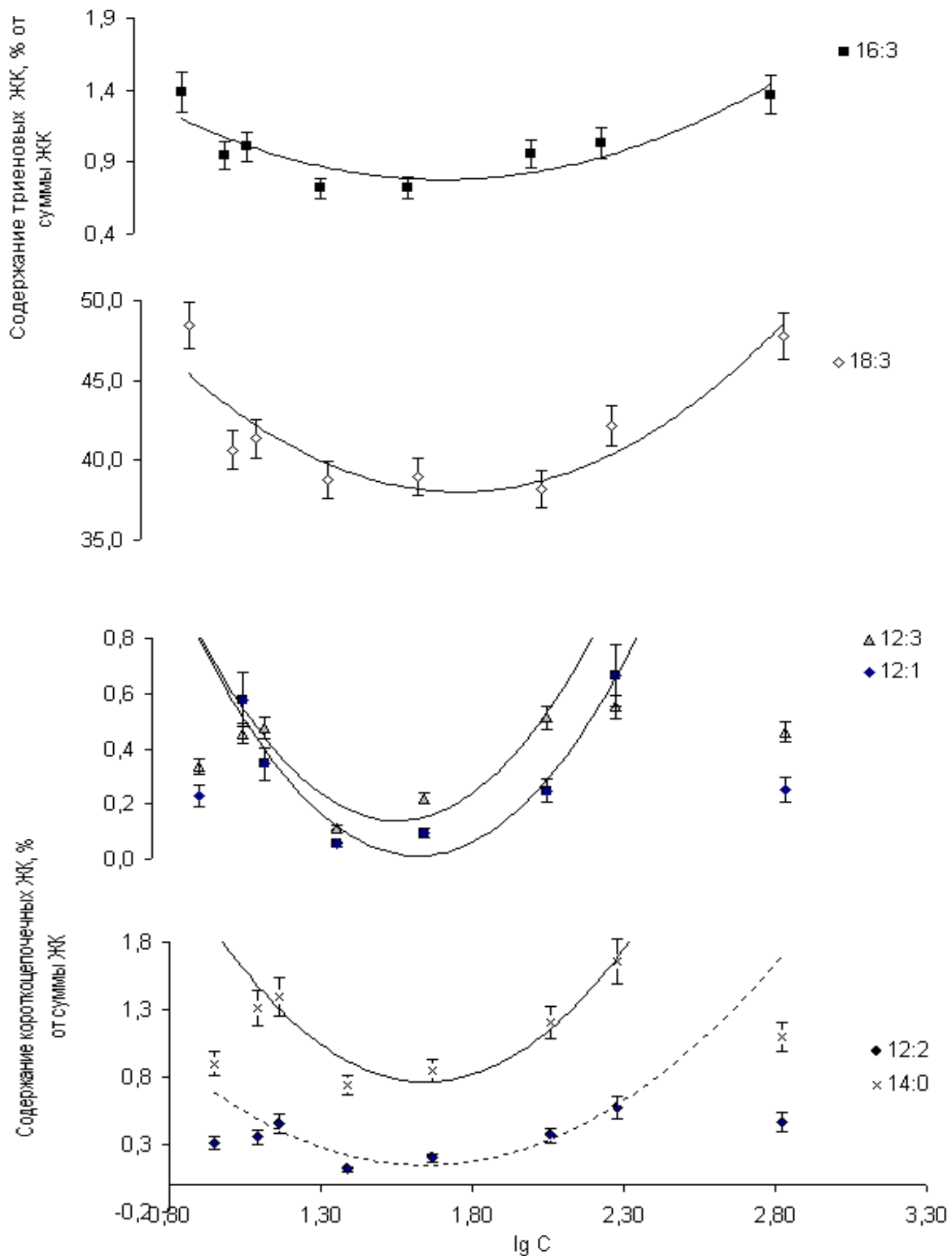


Рис. 6. Содержание триеновых и низкомолекулярных ЖК в хвое сеянцев сосны обыкновенной в связи с обеспеченностью бором.

$\lg C$ – логарифмическая шкала концентрации бора (C) в хвое, мг кг^{-1} сухого вещества

Состав ЖК липидов хвои сеянцев сосны при неблагоприятном борном обеспечении. У сеянцев, растущих в условиях дефицита и избытка бора, происходило увеличение ИН ЖК в основном в результате повышения суммы триеновых ЖК – линоленовой и гексадекатриеновой. При этом отмечалось также повышение содержания низкомолекулярных ЖК ($C_{12:1}$, $C_{12:2}$, $C_{12:3}$). У деревьев сосны накопление короткоцепочечных ЖК в нейтральных липидах хвои происходило в период адаптации сосны к морозу (Родионов, Ильинова, 1983). Аналогичные данные были получены при исследовании ЖК фосфолипидов меристематических тканей почек лиственницы сибирской (Алаудинова и др., 2000). Поскольку длина углеродной цепи ЖК влияет на температуру ее плавления, то низкомолекулярные ЖК, как и высоконенасыщенные, могли способствовать поддержанию жидкой консистенции липидов и таким образом влиять на морозоустойчивость растений. По нашим и литературным данным можно предположить, что повышение уровня ненасыщенных и короткоцепочечных ЖК у растений является механизмом адаптации их к широкому спектру неблагоприятных условий существования. Согласно общепринятой мембранной теории стресса («теории мембранного гомеостаза») изменения жирнокислотного состава полярных липидов мембран при стрессе приводят к изменению их текучести, к сдвигам в мембранной структуре клеток и в итоге к торможению накопления биомассы (Mazliak, 1989).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлены особенности использования бора в функциональной активности хвойного древесного растения на примере *Pinus sylvestris* L. Оптимизация борного питания сеянцев сосны обыкновенной повышает уровень показателей азотного обмена в хвое – общего, белкового, небелкового азота, суммы свободных аминокислот, повышает содержание насыщенных жирных кислот в хвое преимущественно за счет пальмитиновой кислоты. При этом происходит более интенсивная утилизация липидных соединений в хвое. Отмеченные изменения физиолого-биохимических показателей хвойных растений приводят к интенсификации их роста. При неблагоприятных условиях борного питания сеянцев происходит снижение содержания общего, белкового, небелкового азота, суммы свободных аминокислот в хвое, повышение уровня ненасыщенных и низкомолекулярных жирных кислот в хвое, что, наряду с повышением содержания в хвое цистеина, приводит к снижению интенсивности роста растений.

ВЫВОДЫ

1. Содержание бора в органах сеянцев сосны обыкновенной может варьировать в широком диапазоне (6 – 664 мг кг⁻¹ сухого вещества). Большая часть бора локализуется в хвое, где его содержание изменяется под воздействием обеспеченности бором растений в наибольшей степени по сравнению с другими органами.

2. Бор оказывает стимулирующее влияние на рост сеянцев сосны при узком диапазоне содержания его в органах растений, которое зависит от фона минерального питания и составляет до 50 мг кг⁻¹ и до 80 мг кг⁻¹ сухого вещества на низком и оптимальном фонах минерального питания соответственно.

3. Оптимизация борного питания сеянцев сосны обыкновенной повышает содержание в хвое общего, белкового, небелкового азота и суммы свободных аминокислот в результате повышения уровня большинства аминокислот, при этом содержание пролина, лейцина и орнитина достоверно не изменяется, а лизина, фенилаланина, глицина и гистидина – снижается.

4. При дополнительном обеспечении бором сеянцев сосны обыкновенной, дефицитных по данному микроэлементу, содержание липидов в хвое понижается, что свидетельствует об интенсификации их утилизации, при этом уровень насыщенных ЖК СЛ повышается преимущественно за счет пальмитиновой при соответствующем снижении уровня ненасыщенных ЖК и ИН ЖК за счет триеновых – линоленовой и гексадекатриеновой. Содержание моноеновых и диеновых ЖК в хвое увеличивается.

5. При неблагоприятных условиях борного питания сеянцев сосны обыкновенной происходит снижение содержания общего, белкового, небелкового азота, большинства свободных аминокислот в хвое, повышение уровня цистеина, ненасыщенных и низкомолекулярных жирных кислот липидов, изменение цветности хвои, в результате чего происходит ингибирование роста растений.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Дорофеева О.С., Чернобровкина Н.П., Ильинова М.К., Канючкова Г.К., Робонен Е.В. Влияние обеспечения бором на состав жирных кислот суммарных липидов хвои сеянцев *Pinus sylvestris* L в зависимости от условий минерального питания // Тезисы докл. междунар. молодежной конф. Архангельск, 17-19 июня 2003 г. С. 101.

2. Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Ильинова М.К., Иготти С.А., Дорофеева О.С., Шенгелиа И.Д. Влияние обеспечения бором на рост, развитие, содержание бора и эфирных масел у сеянцев *Pinus sylvestris* L. в различных условиях минерального питания // Тезисы докл. XI делегатского съезда русского ботан. об-ва. г. Барнаул, 17-27 августа 2003 г. С. 249.

3. Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Ильинова М.К., Канючкова Г.К., Чиненова Л.А., Шенгелиа И.Д., Дорофеева О. Влияние обеспечения бором на содержание углеводов, жирных кислот суммарных липидов и эфирных масел в хвое сеянцев *Pinus sylvestris* L. // Тезисы докл. V съезда об-ва физиологов растений России, г. Пенза, 15-21 сентября 2003 г. С. 167.

4. Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Иготти С.А., Дорофеева О.С., Шенгелиа И.Д. Особенности использования азота и бора сосной обыкновенной // Тезисы докл. междунар. конф.: “Физиологические и молекулярно-генетические аспекты сохранения биоразнообразия”. Годичное собрание об-ва физиологов Росси. Вологда, 19-23 сентября 2005 г. С.183.

5. Икконен Е.Н., Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Иготти С.А., Дорофеева О.С., Шенгелиа И.Д. Влияние обеспеченности бором сеянцев сосны обыкновенной на их биомассу // Материалы конф.: “Структурно-функциональные особенности биосистем Севера (особи, популяции, сообщества)”, 26-30 сентября 2005 года. Петрозаводск. С. 199–202.

6. Икконен Е.Н., Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Иготти С.А., Дорофеева О.С., Шенгелиа И.Д. Влияние обеспеченности бором сеянцев сосны обыкновенной на соотношение массы их органов // Материалы конф.: “Структурно-функциональные особенности биосистем Севера (особи, популяции, сообщества)”. 26-30 сентября 2005 года. Петрозаводск. С. 145–147.

7. Холодцева Е.С., Чернобровкина Н.П., Дорофеева О.С. Влияние обеспеченности азотом и бором сеянцев сосны обыкновенной на поглощение растениями элементов минерального питания // Материалы конф.: “Структурно-функциональные особенности биосистем Севера (особи, популяции, сообщества)”, 26-30 сентября 2005 года. Петрозаводск. С. 191–194.

8. Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Иготти С.А., Дорофеева О.С., Шенгелиа И.Д. Влияние обеспеченности бором на рост сеянцев сосны обыкновенной // Лесоведение. 2007. № 4. С. 69–76.

9. Чернобровкина Н.П., Дорофеева О.С., Ильинова М.К., Робонен Е.В., Ялынская Е.Е. Жирнокислотный состав суммарных липидов хвои сеянцев сосны обыкновенной в связи с обеспеченностью бором // Материалы докл. междунар. конф.: “Современная физиология растений: от молекул до экосистем”. Сыктывкар, 18-24 июня 2007 г. С. 439–441.

10. Чернобровкина Н.П., Дорофеева О.С., Ильинова М.К., Робонен Е.В., Верещагин А.Г. Жирнокислотный состав суммарных липидов хвои сеянцев сосны обыкновенной в связи с обеспеченностью бором // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 3. С. 404–411.

Формат 60×84 ¹/₁₆. Бумага офсетная. Гарнитура «Times».
Уч.-изд. л. 1,0. Усл. печ. л. 1,2. Подписано в печать 07.04.09.
Тираж 100 экз. Изд. № 18. Заказ № 783.

Карельский научный центр РАН
Редакционно-издательский отдел
185003, Петрозаводск, пр. А. Невского, 50

