



АГРАРЕН УНИВЕРСИТЕТ – ПЛОВДИВ
ФАКУЛТЕТ ПО АГРОНОМСТВО
КАТЕДРА ФИЗИОЛОГИЯ НА РАСТЕНИЯТА И БИОХИМИЯ

Росица Чолакова-Бимбалова

„Проучване върху реакцията на царевица (*Zea mays* L) към ниски температури и ефективността на последващо листно подхранване ”

АВТОРЕФЕРАТ

за получаване на образователната и научна степен „Доктор”

Професионално направление: 6.1 Растениевъдство

Докторска програма – „Физиология на растенията”

Научен ръководител:

проф. д-р Андон Василев

2020
Пловдив

Дисертационният труд е написан на 123 страници и съдържа 21 таблици и 11 фигури. Използвани са 216 литературни източника, от които 6 на кирилица и 210 на латиница.

Изследванията са извършени в периода 2014-2019 г. в научната лаборатория на катедра „Физиология на растенията и Биохимия“ при АУ – Пловдив и в Лабораторията за изкуствен климат на Московската селскостопанска академия „К.А. Тимирязев“, Русия.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на заседание на катедра „Физиология на растенията и биохимия“, Аграрен университет - Пловдив.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на г. от часа в на Факултета по агрономство при АУ - Пловдив, на заседание на Специализираното научно жури, назначено от Ректора на Аграрния университет със Заповед № РД г. в състав: .

Рецензии от:.....

Становища от:.....

Материалите по защитата са на разположение на интересуващите се в библиотеката на АУ - Пловдив и са публикувани на интернет страницата на университета.

Изказвам най-искрени благодарности на научния си ръководител проф. д-р Андон Василев, на колегите от катедра „Физиология на растенията и Биохимия“, на колегите от катедра „Физиология на растенията“- Московска селскостопанска академия „К.А. Тимирязев“, Русия, за оказаната помощ и съвети при разработването на дисертационния труд.

I. УВОД

Царевицата (*Zea mays* L.) е основна зърнена култура в много райони на света. Производството на царевица е 750 - 800 млн. тона и представлява над една трета от световната продукция на зърнени култури. В България производството на царевица през последните години прогресивно намалява (Славова, 2015).

Един от факторите, които лимитират добивите е високата ѝ чувствителност към понижени температури в ранните фази от растежа и развитието. Температури в диапазона 5-15°C през ранните фенофази на развитието на царевицата са подоптимални за нея и са способни да причиняват различни функционални нарушения и увреждания (Leipner, 2009; Stamp, 1984; Zaidi et al., 2010). Физиологичната реакция на царевицата към ниски температури зависи от много фактори – чувствителността на хибрида, възрастта на растенията, въздействащата температура, продължителността на въздействието, факторите на околната среда и др. (Farooq et al., 2009). Основните негативни ефекти включват увреждане на клетъчните мембрани (Lukatkin, 2003; Grzybowski et al., 2019), намалено поглъщане на вода и минерални елементи от корените (Aroca et al., 2005; Moradtalab et al., 2018), окислителни повреди (Fryer et al., 1998), понижена фотосинтетична активност (Long and Spence, 2013) и редица други, чиито интегрален резултат е потискането на растежа, развитието и продуктивността на културата (Stamp, 1984; Lobell and Asner, 2003; Wijewardana et al., 2016).

Вредното въздействие на ниските температури може да се ограничи чрез два основни подхода: селекционен, насочен към създаване на по-толерантни царевични хибриди (Rodríguez et al., 2007), и технологичен, базиран на прилагане на различни иновативни средства, подобряващи толерантността на растенията (Wang et al., 2018; Moradtalab et al., 2018).

Чувствителността на царевицата към ниски положителни температури е актуална тема през последните 30 години. Основните проучвания са извършвани с цел селекцията на по-толерантни хибриди. (Huang et al., 2013; Wijewardana et al., 2015; Sobkowiak et al., 2016; Riva-Roveda et al., 2016) Редица автори установяват, че по-толерантните царевични хибриди имат по-добър физиологичен статус при стресови условия (Verheul et al., 1995; Ribas-Carbo et al., 2000; Pietrini et al., 1999) и по-бързо се възстановяват от стреса в сравнение с чувствителните хибриди (Aguilera et al., 1999; Aroca et al., 2001; Haldimann, 1999).

Макар и по-слабо застъпен като метод, в сравнение със селекцията на по-толерантни хибриди са получени данни, които показват, че приложението на различни иновативни средства оказват положителни ефекти върху растения, подложени на различни стресови въздействия, включително и ниски

температури. Проведените изследвания са в три направления: предсеитбена обработка на семена (Guan et al., 2015; Bradačova et al., 2016; Hacısalihoglu et al., 2018), присеитбено торене (Moradtalab et al., 2018) и листно подхранване и/или стимулиране с листни торове и биостимуланти (Polo et al., 2006; Marfà et al., 2009; Votta, 2012), с цел предпазно или лечебно действие.

Подхранването с листни торове е традиционна практика в храненето на растенията, но също така е и ефективно средство за подобряване физиологичния им статус при стресови въздействия (Dimkpa and Bindraban, 2016). Сведенията за влиянието на биостимулантите върху царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие, за сега са твърде оскъдни.

Биостимулантите са иновативна група продукти, които подпомагат растежа и развитието на растенията чрез физиологични ефекти в тях и/или в тяхната ризосфера. Биостимулантите съдържат различни биоактивни природни вещества, като основните от тях са: (1) хуминови и фулвокиселини, (2) протеинов хидролизат, (3) екстракти от макроводорасли, (4) полезния за растенията елемент Si, както и (5) полезни микроорганизми.

Протеиновите хидролизати (ПХ) са една от най-разпространените групи биостимуланти. Те представляват "смеси от свободни аминокиселини (АК), нискомолекулни пептиди и в много по-малка степен други органични вещества" (Colla et al., 2017). Получават се чрез химична или биологична хидролиза на различни животински (Cavani et al., 2006; Ertani et al., 2013; Grabowska et al., 2012) и растителни източници (Schiavon et al., 2008; Ertani et al., 2009; De Lucia and Vecchietti, 2012). Установено е, че ПХ оказват защитни ефекти в растения, подложени на засоляване, засушаване, високи температури и други видове стрес (Nardi et al., 2016; Colla et al., 2017). Много по-малко е известно за ефектите на ПХ върху растения, подложени на нискотемпературен стрес (Polo et al., 2006; Marfà et al., 2009).

Посоченото дотук ни мотивира да проведем изследване върху физиологичната реакция на съвременни царевични хибриди към нискотемпературно въздействие и да оценим лечебния потенциал на различни биостимуланти (протеинов хидролизат) и листни торове за възстановяване на растенията.

III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

1. ЦЕЛ

Да се проучи влиянието на хронично нискотемпературно въздействие върху физиологичния статус на млади царевични растения и възможността за преодоляване на предизвиканите в тях функционални нарушения чрез прилагане на листни торове и биостимуланти.

2. ЗАДАЧИ

A/ Във връзка с влиянието на ниските положителни температури върху физиолого-биохимичните показатели на млади царевични растения

1. Да се опишат визуалните прояви и промените в растежа на млади царевични растения, изпитали хронично нискотемпературно въздействие.

2. Да се проследи физиологичната реакция на царевичните растения към приложеното нискотемпературно въздействие чрез електрофизиологични, кондуктометрични и биохимични показатели.

3. Да се проучи влиянието на хроничното нискотемпературно въздействие върху минералния и воден статус на царевичните растения.

4. Да се характеризира фотосинтетичната активност на царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие чрез анализи върху листния газов обмен, съдържанието на фотосинтетични пигменти и хлорофилната флуоресценция.

B/ Във връзка с влиянието на листни продукти върху физиолого-биохимични показатели на млади царевични растения

1. Да се проучи влиянието на листен биостимулант върху физиологичния статус на млади царевични растения, отглеждани при оптимален температурен режим и при нискотемпературно въздействие.

2. Да се проучат и сравнят ефектите на листни продукти, приложени по време на нискотемпературно въздействие, върху физиологичния статус на млади царевични растения, както следва:

2.1. Сравнение между листен тор и биостимулант

2.2. Сравнение между биостимулантен продукт и неговите органични и неорганични компоненти

2.3. Сравнение между два листни биостимуланта

IV. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. МАТЕРИАЛ

1.1. Растителни обекти

Хибридът Кнежа 307 е нов хибрид царевица, създаден в Института по царевицата - гр. Кнежа през 2014 г. Не е проучена толерантността на хибрида при стресови условия.

- ❖ Хибрид Р9528 е на фирма Пионер. Характеризира се с отлична толерантност към стресови условия при поникване.

1.2. Биостимуланти и торове, използвани в опитите

- ❖ Terra-Sorb Foliar® е ПХ. Съдържа свободни аминокиселини и нискомолекулни пептиди. Произвежда се от Bioiberica S.A. (Испания).
- ❖ Naturamin WSP е ПХ. Съдържа до 80 % свободни аминокиселини, общ азот – 12,8 % и органичен азот – 12,8 %. Произвежда се от Desarrollo Agricola Y Mimero S. A. (DAYMSA), Испания
- ❖ Amino Expert® Impulse е биостимулант, съдържащ комбинация от аминокиселини, фитохормони, хелатирани микроелементи, органични вещества и витамини, млечна киселина, олигопептиди и естествени омокрители. Произвежда се от Екофол АД, България.
- ❖ Polyplant 20/20/20 е водоразтворим гранулиран тор, съдържа макро- и микроелементи. Произвежда се от Phytothreptiki S.A., Гърция.

2. ОПИТИ

Опитите са изведени в лабораториите на катедрата Физиология на растенията и Биохимия на Аграрния Университет – Пловдив и в Лабораторията за изкуствен климат на Московската селскостопанска академия „К.А. Тимирязев“, Русия.

2.1. Отглеждане на царевичните растения

Царевичните семена след покълнване в инертен субстрат (перлит), са пренесени в светлинни модули и са отгледани хидропонно като водна (Снимка 1) или хидропонно-субстратна (Снимка 2) култура при следните условия: фотопериод – 14/10 часа (ден/нощ), осветеност (ФАР) - $170 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ и относителна влажност на въздуха - 55-60%.



Снимка 1. Общ вид на царевичните растения от хибрида Кнежа 307 и хибрида Р9528, отглеждани като водна култура върху 1/2 модифициран хранителен разтвор на Хогланд.



Снимка 2. Общ вид на царевични растения, отглеждани на хидропонно-субстратна култура.

2.3. Предварителни опити

Предварителните опити са проведени с растения от хибрид Кнежа 307. Целта на тези опити е да се подберат подходяща температура и продължителност на нискотемпературното въздействие, предизвикващи хроничен стрес върху младите царевични растения. Изпитани са три постоянни денонощни температури на отглеждане, а именно $5\pm 1^\circ\text{C}$, $10\pm 1^\circ\text{C}$ и $15\pm 1^\circ\text{C}$, при продължителност на нискотемпературната експозиция - 3, 7 и 10 дни.

2.4. Основни опити

♦ Експериментална постановка 1

Царевични растения на възраст 3^{-ти} лист са отгледани за 7 дни при два различни температурни режима: $25\pm 1^\circ\text{C}$ / $20\pm 1^\circ\text{C}$ (ден/нощ) и постоянна $10\pm 1^\circ\text{C}$ температура. Експерименталната постановка включва 4 варианта, заложи в 3-кратна повтораемост (съда), с 4 растения в съд, а именно:

Вариант 1. Кнежа – $25/20^\circ\text{C}$ **Вариант 2.** Кнежа – 10°C

Вариант 3. P9528 – $25/20^\circ\text{C}$ **Вариант 4.** P9528 – 10°C



А.



Б.

Снимка 3. и Снимка 4. Външен вид на царевични растения от хибрида Кнежа, отглеждани при различен температурен режим (А - режим $25\pm 1^\circ\text{C}$ / $20\pm 1^\circ\text{C}$ ден / нощ , Б – $10\pm 1^\circ\text{C}$ постоянно).

♦ Експериментална постановка 2

Опитът е изведен с царевични растения от хибрида Кнежа 307 като хидропонно-субстратна култура. Използвани са растения на възраст 3^{-ти} лист, които се отглеждаха за 14 дни при два температурни режима (ТР): $25\pm 1^\circ\text{C}$ / $20\pm 1^\circ\text{C}$ (ден/нощ) и постоянна $10\pm 1^\circ\text{C}$ температура). След 7 дни половината растения са изпръскани с 1% воден разтвор на биостимуланта Terra-Sorb Foliar® в доза 1 ml / растение и бяха оставяни за развитие при същите условия за още 7 дни.

Вариант 1. $25/20^\circ\text{C}$; без третиране **Вариант 2.** 10°C ; без третиране

Вариант 3. $25/20^\circ\text{C}$; с третиране **Вариант 4.** 10°C ; с третиране

♦ *Експериментална постановка 3*

Опитите са изведени с царевични растения от хибрида Кнежа 307 като хидропонно-субстратна култура. Използвани са растения на възраст 3-ти лист, които се отглеждаха за 14 дни при два различни температурни режима: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ / $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ (ден/нощ) и постоянна $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (температура). След 7 дни част от растенията, експонирани при температура $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, са третирани лечебно с листни продукти и продължават да се развиват при същите условия за още 7 дни.



Снимка 5. Общ вид на експериментална постановка, при която царевични растения от хибрида Кнежа 307 са подложени на нискотемпературно въздействие, за период от 14 дни ($10\pm 1^{\circ}\text{C}$; постоянно) и изпръскани лечебно с торови продукти.

В *опит 1*. Биостимулантът Terra-Sorb Foliar® и листният тор Polyplant са приложени в концентрация 1%. В *опит 2*. Биостимулантът Amino Expert Impuls® и неговите органични и неорганични компоненти са приложени в концентрация 1%. В *опит 3*. Биостимулантът Terra-Sorb Foliar® е приложен в концентрация 1%, а Naturamin WSP - в концентрация 0.1%. Обемът на третирането с продуктите беше 1 ml / растение.

3. МЕТОДИ ЗА АНАЛИЗ

3.1. Биометрични показатели

Анализът на свежата (FW) и суха (DW) маса на растенията и техните органи (корени и листа) са определени тегловно. Размерите на височината на растенията и дължината на корените – линейно. Листната площ – с площомер в cm^2 и относителна скорост на растежа (RGR) по Beadle, (1993).

3.2. Съдържание на минерални елементи

Съдържанието на общия азот е анализирано по модифициран метод на Келдал, на фосфор (P_2O_5) – спектрофотометрично, а на калий (K_2O) – на пламъков фотометър (Томов и др., 1999). Съдържанието на микроелементите Zn, Cu, Mn и Fe е определено чрез атомно-емисионна спектрометрия с индуктивно свързана плазма.

3.3. Фотосинтетични показатели

Фотосинтетични пигменти

Фотосинтетичните пигменти са определени спектрофотометрично по Lichtenthaler (1988).

Листен газов обмен

Показателите на листния газообмен са определени с портативна фотосинтетична система LCpro+ [AnalyticalDevelopmentCompanyLtd., Hoddesdon, England].

Хлорофилна флуоресценция

Хлорофилната флуоресценция е определена с два различни уреда с различен принцип на измерване – (1) импулсно модулиран флуориметър MINI-PAM (H. Walz, Effeltrich, Germany) и (2) флуориметър за пряка регистрация на хлорофилната флуоресценция Handy-PEA (Hasatech instruments Ltd., UK).

3.4. Електрофизиологични методи

Биоелектрическата реакция (БЕР) на листните тъкани е определена по усъвършенстван метод на Паничкин и др. (2009).

3.5 Кондуктометрични измервания

Електролитното изтичане от растителни тъкани е определено кондуктометрично с кондуктометър Експерт – 002. с

3.6. Биохимични методи

Гваякол пероксидаза (GPOD)

Активността на GPOD (EC 1.11.1.7) е определена спектрофотометрично съгласно Bergmeyer et al., (1974).

Съдържание на общи феноли

Общото количество фенолни съединения е определено по метода на Singleton and Rossi (1965), с леки модификации.

Съдържание на антоциани

Измерването на количеството антоциани е извършено по метода на Guisti and Wrolstad (2001).

Антирадикалова активност

Антирадикалова активност е отчетена по метода на Shalaby et al., (2013).

Липидна пероксидация

Степента на липидната пероксидация е определена по метода на Heath and Packer (1968).

3.7. Статистическа обработка на данните

Данните са представени като средни стойности $\pm$ SD. Резултатите са обработени статистически чрез еднофакторен ANOVA анализ, последван от тест на Duncan. Достоверността на разликите е определена при ниво на значимост 95 % ($P < 0.05$). Различните букви (a, b, c или d) след средната стойност показват статистически значими разлики между сравняваните варианти.

V. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

1. Влияние на ниски положителни температури върху физиолого-биохимичните показатели на млади царевични растения

1.1. *Визуална симптоматика и ефекти на ниската температура върху растежа на млади царевични растения*

Създаването на царевични хибриди с подобрена толерантност към ниски температури би позволило по-ранни дати на засяване, позволявайки по този начин да се избегне стресовото въздействие на засушаването, характерно за основните производствени райони на тази култура.

Изследванията са изведени основно с новия хибрид царевица Кнежа 307. За сравнение на неговата толерантност към ниски положителни температури е включен и хибрид Р9528 (фирма Пионер, сега Кортена Агрисайънс), който се отличава с повишена устойчивост към стресови условия през периода на поникване.

Визуалните наблюдения показват, че подложените на нискотемпературно въздействие ($10\pm 1^{\circ}\text{C}$) царевични растения от хибридите Кнежа 307 и Р9528 се отличават с много по-нисък темп на растеж в сравнение с контролните растения, отглеждани при оптимална температура ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$). Растежът след 7-дневно въздействие с ниската температура се вижда на Снимка 6А и 6Б.

Резултатите показват, че височината на растенията и дължината на корените намаляват съществено, с 44% до 47%, при хибридите Кнежа 307 и Р9528, съответно. Стресираните царевични растения не формират нов лист, докато контролните растения от двата хибрида развиват четвърти лист. Свежата маса на стресираните царевични растения е понижена с 58% до 61% при хибридите Кнежа 307 и Р9528, а натрупването на суха маса е в рамките на 47% – 48%. Листната площ на растенията от двата варианта се различава значително - с 63% - 64% по-малко спрямо отгледаните при оптимална температура.



Кнежа 307

Р9528

Снимки 6А и 6Б. Външен вид на млади царевични растения от двата, отгледани при оптимална температура ($25/20^{\circ}\text{C}$; вдясно) и изпитали 7-дневно нискотемпературно въздействие ($10\pm 1^{\circ}\text{C}$; вляво).

Растенията, подложени на нискотемпературно въздействие, се отличават от контролните с ясно изразена симптоматика. Листата развиват характерни хлоротични симптоми (Снимки 9), а корените се отличават с по-слабо развитие и разклоняване (Снимка 7). Визуалните признаци на нискотемпературния стрес са идентично проявени в царевичните растения от двата хибрида. Наблюдаваните симптоми са идентични с описаните от Miedema (1982), Farooq et. al. (2009) и Riva-Roveda et al. (2016) за листата и на Kiel and Stamp (1992) за корените на царевични растения, подложени на ниски температури.



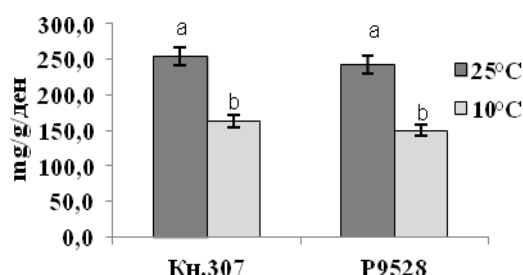
Сн.7

Сн.8

Сн.9

Снимки 7, 8 и 9. Външен вид на царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие (Сн.7), на лист от растение при оптимална температура (Сн.8) и на лист от подложено на ниска температура растение (Сн.9).

Биометричните стойности показват разликите в растежа между сравняваните варианти в конкретен момент, но не отразяват скоростта на процеса. Обективен показател на растежните процеси в растенията е относителната скорост на растежа (RGR), която дава представа за ежедневния прираст на сухата маса спрямо масата в началния момент. Данните, представени на Фигура 1, показват, че RGR в контролните растения е в интервала 240 – 250 mg / g свежа маса / ден, докато в стресираните от ниската температура растения от двата хибрида, тя е с 36 % до 38% по-малка.



Фигура 1. Влияние на 7-дневно нискотемпературно въздействие върху относителна скорост на растежа на млади царевични растения от хибрида Кнежа 307 и хибрида P9528. Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

Резултатите от проведените биометрични измервания и наблюдаваните визуални симптоми показват, че приложеното 7-дневно нискотемпературно

въздействие ($10\pm1^{\circ}\text{C}$) оказва значителен потискащ ефект върху растежа на царевичните растения от хибридите Кнежа 307 и P9528.

Нашите изследвания потвърждават становището, че ниската температура засяга силно биометричните параметри на царевичните растения, променя кореновата морфология и предизвиква хлоротични изменения в листата на царевичните растения, които са в синхрон с проучванията на редица автори (Leipner, 2009; Hodges et al., 1997, Aroca et al., 2003; Ribas - Carbo et al., 2000; Reimer, 2010). Въпреки че в нашите изследвания не се наблюдава увяхване на растенията, инфилтрация на течности, некрози по листата и други характерни симптоми, които са описвани в растения, подложени на нискотемпературно въздействие (Lukatkin et al, 2012). Нашите резултати потвърждават мнението на Kaspar and Bland (1992), че ниската температура оказва много по-силно влияние върху дължината на корените, отколкото върху сухата им маса. Този ефект, заедно с установената по-силна редукция на свежата в сравнение със сухата маса на растенията, показва, че ниските температури нарушават водния статус на царевичните растения (Ben-Haj-Salah and Tardieu, 1995).

Физиологичното състояние на подложените на нискотемпературно въздействие царевични растения е проследено чрез анализ на биоелектрическата им реакция (БЕР) и окислително-редукционния им статус.

Данните показват, че контролните и изпиталите нискотемпературен стрес царевични растения се различават по някои електрофизиологични параметри на БЕР (Таблица 1).

Таблица 1. Параметри на БЕР в листата на контролни и изпитали нискотемпературно въздействие царевични растения от хибрида Кнежа 307.

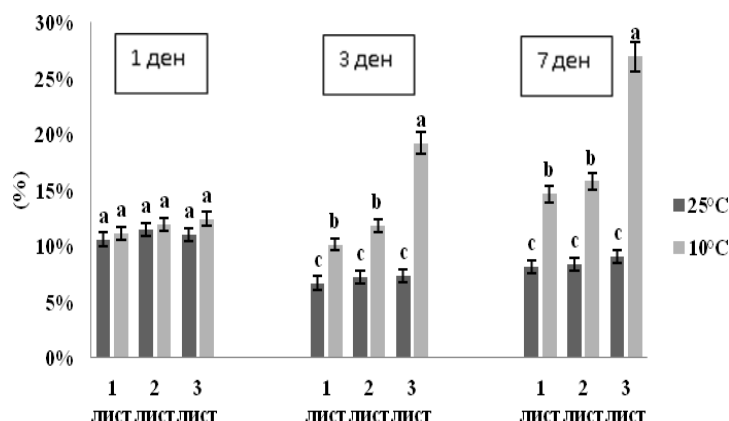
Варианти	Изм. РП (mV)	Амплитуда БЕР (mV)	Време деполяриз. (s)	Време реполяриз. (s)	Площ регулир. (cm ²)
1 ден					
Контрола 25°C	48,00±1,6 ^a	15,16±1,2 ^a	126,67±7,0 ^a	153,33±41,7 ^a	1025,56±128,8 ^a
Стрес 10°C	29,83±2,7 ^b	12,72±1,5 ^a	66,22±1,0 ^b	97,53±22,9 ^a	1240,72±264,7 ^a
3 ден					
Контрола 25°C	-16,50±5,9 ^b	10,92±5,9 ^a	115,83±2,5 ^a	126,66±20,1 ^a	1281,11±125,5 ^a
Стрес 10 °C	-52.33±7,4 ^a	23,00±3,0 ^b	120,00±20,2 ^b	212,50±51,1 ^b	4802,50±242,2 ^b
7 ден					
Контрола 25°C	-28,17±8,5 ^a	10,33±1,1 ^a	131,67±1,6 ^a	150,00±20,0 ^a	1570,9±106,6 ^a
Стрес 10°C	-38,50±12,7 ^a	18,67±3,2 ^b	115,83±18,3 ^b	185,00±26,1 ^b	3525,56±358,3 ^b

Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P<0.05\%$.

Еднодневното нискотемпературно въздействие намалява функционалната активност на листата, което е видно от по-малката РП, в сравнение с тази в контролните растения (29,83 към 48,00 mV, но все още не причинява значителни увреждания. Функционалната активност на листата значително се понижава след 3- и 7-дневно нискотемпературно въздействие. Наблюдават се съществени различия между контролните и стресираните растения. Стойностите на площта за регулиране в тези растения надвишават тези в контролните растения от 2 до 4 пъти. Колкото е по-голяма площта на регулиране, толкова е по-ниска функционалната активност на тъканите. Очевидно, в мембранните системи на клетките от шоково охладената зона в изпиталите 3- и 7-дневно нискотемпературно въздействие царевични растения са налице различни структурно-функционални увреждания, които изменят тяхната БЕР.

Необходимо е да се отбележи, че стойностите на площта на регулиране не нарастват след 3-дневен нискотемпературен стрес. Това вероятно се дължи на процес на аклимация на царевичните растения към приложената ниска температура към този период от въздействието.

Електролитното изтичане, който е индикатор за изменение на пропускливостта на клетъчните мембрани показва, че обемът на електролитите, които се отделят от листните тъкани на царевичните растения зависят от възрастта на листата и продължителността на нискотемпературното въздействие (Фигура 2).



Фигура 2. Влияние на нискотемпературното въздействие върху електролитното изтичане от листни сегменти на млади царевични растения от хибрида Кнежа 307. Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

Еднодневната експозиция на царевичните растения в условия на ниска температура не оказва увреждащ ефект върху функционирането на клетъчните мембрани на I-я, II-я и III-я лист на царевичните растения. Разликите в чувствителността на листата се появяват на третия ден и по-силно на седмия ден от началото на стресовото въздействие. Най-високата степен на нарушение на клетъчните мембрани се наблюдава при активно растящия III-ти лист. Делът на

отделените от него електролити е почти 2 пъти по-висок в сравнение с останалите листа и 2 пъти по-висок от контролния вариант.

Получените от нас резултати кореспондират с данните на Lukatkin (1997), Markowski and Skrudlik (1995) и Grzybowski et al. (2019), които наблюдават силна екзоосмоза на електролити от листата на млади царевични растения, подложени на нискотемпературен стрес. По-високото увреждане на третия, най-младия и активно растящ лист на стресираните царевични растения в сравнение с първия, по-стар лист не кореспондира с данните на Паничкин и др. (2009), получени при краставични растения, подложени на нискотемпературен стрес.

Многократно е установено, че нискотемпературното въздействие предизвиква окислителен стрес в царевичните растения, като степента на увреждане зависи от приложената температура и продължителността на въздействието (Fryer et al., 1998; Leipner et al., 1999; Pastori et al., 2000). В нашите изследвания активността на антиокислителния ензим гваякол пероксидаза (GPOD) след 7-дневна експозиция на царевичните растения при ниска температура нарасна съществено само в корените (Таблица 2).

Таблица 2. Влияние на 7-дневното нискотемпературно въздействие върху активността на гваякол пероксидазат ($U\ mg\ g^{-1}FW$) в листата и корените на млади царевични растения от хибридите Кнежа 307и P9528.

Варианти	Гваякол пероксидаза	
	Листа	Корени
Кнежа 307		
Контрола 25°C	1,56 ± 0,29 ^a	7,79 ± 0,40 ^b
Стрес 10°C	1,83 ± 0,06 ^a	10,44 ± 0,36 ^a
P9528		
Контрола 25°C	1,33 ± 0,07 ^a	7,13 ± 0,48 ^b
Стрес 10°C	1,40 ± 0,09 ^a	9,42 ± 0,79 ^a

Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

Данните показват, че активността на GPOD в листата е повишена със 17% при растенията от хибрида Кнежа 307 и с 5% в растенията от хибрида P9528. Стойностите на GPOD в корените на растенията нарастват с 34% при растенията от Кнежа 307 и с 32 % при P9528.

Когато антиокислителната защитна система не е в състояние на контролира АКФ на безопасно ниво, настъпват окислителни повреди в макромолекулите. Сред най-характерните негативни ефекти на АКФ е липидната пероксидация. Проведените измервания на липидната пероксидация в листата, потвърждават наличието на окислителни нарушения в стресираните царевични

растения (Таблица 3). Статистически достоверни различия с контролните растения по този показател се проявяват само след 7-дневно въздействие.

От съдържанието на MDA в листата и корените на стресираните растения от хибрида Кнежа 307 се вижда, че то е повишено с 55% и 36%, съответно, а в тези от хибрида P9528 с 30% и 34%.

Таблица 3. Влияние на седемдневното нискотемпературно въздействие върху съдържанието на малондиалдехид ($\text{nmol MDA g}^{-1} \text{FW}$) в листата и корените на млади царевични растения от хибридите Кнежа 307 и P9528.

Варианти	Съдържание на малондиалдехид	
	Листа	Корени
Кнежа 307		
Контрола 25°C	18,12±1,44 ^b	8,96±0,05 ^b
Стрес 10 °C	28,00±0,89 ^a	12,19±1,44 ^a
P9528		
Контрола 25°C	21,70±1,01 ^b	9,51±1,27 ^b
Стрес 10 °C	28,21±0,25 ^a	12,71±0,51 ^a

Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

Високата чувствителност на фотосинтезата към ниски положителни температури в С-4 тип растения, каквато е царевицата е известна отдавна (Stamp, 1984; Long et al., 1994). Добре документирани са и основните структурно-функционални нарушения във фотосинтетичния процес, които ниските температури предизвикват в царевичните растения, но съществуват и ненапълно изяснени въпроси, които поддържат актуалността на проблема, както в теоретичен, така и в практически аспект.

Проучена е фотосинтетичната реакция на царевичните растения към нискотемпературен стрес чрез анализи върху листния газов обмен, съдържанието и отношенията между фотосинтетичните пигменти и хлорофилната флуоресценция. По-голямата част от изследванията са проведени с новия български царевичен хибрид Кнежа 307. В част от изследванията включихме и хибрида P9528, който се отличава с повишена толерантност към стресови фактори при поникване. Получената информация служи за сравняване на актуалната фотосинтетична активност на царевичните растения от двата варианта. Данните, представени в Таблица 4, ясно показат негативния ефект от нискотемпературното въздействие върху потенциалния листен газов обмен на царевичните растения. Приложената ниска температура ($10 \pm 1^\circ\text{C}$) понижава нетната фотосинтетична скорост (A) с 67% в растенията от Кнежа 307 и с 44% при тези от P9528. Интензивността на транспирацията (E) намалява значително – с 66% и с 39% в растенията от хибрида Кнежа 307 и P9528, респективно.

Промените в устичната проводимост (g_s) следват подобна тенденция, като отново понижението при Кнежа 307 е по-силно (80%) от това при P9528 (50%). Обратна тенденция се наблюдава в междуклетъчната концентрация на CO_2 (c_i), стойностите на която в стресираните растения нарастват – с 39% при Кнежа 307 и с 48% при P9528. Приложеното нискотемпературно въздействие оказва силен негативен ефект върху интегралния фотосинтетичен процес (A) в царевичните растения. Според Long and Spence (2013) и Salesse-Smith et al. (2019) въглеродната асимилация в царевичката при хронични нискотемпературни (10-14°C) въздействия може да се понижи с 50-60%, което напълно кореспондира с нашите резултати.

Таблица 4. Влияние на 7-дневно нискотемпературно въздействие върху параметрите на листния газов обмен в листата на млади царевични растения от хибрида Кнежа 307 и хибрида P9528. A – скорост на нето фотосинтезата ($\mu mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$); E – интензивност на транспирацията ($mmol H_2O m^{-2} s^{-1}$), g_s – устична проводимост ($mol m^{-2} s^{-1}$) и c_i – междуклетъчна концентрация на CO_2 (vpm).

Варианти	Листен газов обмен			
	A	E	g_s	c_i
Кнежа 307				
Контрола 25°C	16,69±0,11 ^a	0,71±0,04 ^b	0,05±0,01 ^b	121±6 ^b
Стрес 10°C	5,43±0,01 ^c	0,24±0,08 ^c	0,01±0,00 ^c	168±2 ^a
P9528				
Контрола 25°C	18,09±0,10 ^a	1,08±0,07 ^a	0,08±0,01 ^a	61±8 ^d
Стрес 10°C	10,07±0,15 ^b	0,66±0,09 ^b	0,04±0,01 ^b	90±9 ^c

Различните букви (a , b , c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

Значителната разлика в инхибицията на A в растенията от двата царевични хибрида (над 20%) демонстрира наличие на генотипна специфика във фотосинтетичния отговор към приложения нискотемпературен стрес, установени също и от Aroca et al. (2001) и Wijewardana et al. (2016).

Разликата в степента на инхибиране на въглеродната асимилация на двата хибрида към приложеното 7-дневно нискотемпературно въздействие може да се дължи на различна фотосинтетична чувствителност, но не могат да се изключат и разлики в способността им за аклимация към стресовите условия (Grzybowski et al., 2019). Известно е, че фотосинтезата може да бъде лимитирана от устични и мезофилни фактори. Имайки предвид, че стойностите на A , E и g_s в стресираните растения намаляват, а междуклетъчната концентрация на CO_2 (c_i) нараства, можем да приемем, че в инхибицията на A преобладават мезофилните лимитиращи фактори.

Хлоротичните промени в основата на листните петури и изсветляването в останалата част на листата показват, че съдържанието на фотосинтетичните пигменти в подложените на нискотемпературно въздействие царевични растения е по-ниско от това в контролните растения. Получените резултатите, представени в Таблица 5, потвърждават наблюдаваните визуални хлоротични прояви. Общото съдържание на хлорофили в средната част на листата в стресираните растения е съществено понижено спрямо нивото им в контролните растения – с 46% и 21% в Кнежа 307 и P9528, съответно.

Таблица 5 Влияние на 7-дневно нискотемпературно въздействие върху съдържанието и отношенията между фотосинтетични пигменти в листата на млади царевични растения от хибрида Кнежа 307 и хибрида P9528.

Варианти	Съдържание и отношение между фотосинтетични пигменти				
	Хл. (a)	Хл. (b)	Каротин.	Хл. (a+b)	Каротин./ Хл.(a+b)
Кнежа 307					
Контрола 25°C	3,12±0,29 ^a	1,00±0,08 ^a	0,85±0,06 ^a	4,12±0,12 ^a	0,21 ±0,01 ^b
Стрес 10°C	1,76±0,04 ^d	0,48±0,05 ^d	0,65±0,05 ^c	2,24±0,07 ^c	0,29 ±0,03 ^a
P9528					
Контрола 25°C	2,35±0,19 ^b	0,87±0,08 ^b	0,73±0,09 ^b	3,22±0,07 ^b	0,23± 0,00 ^b
Стрес 10°C	1,94±0,10 ^c	0,59±0,07 ^c	0,70±0,12 ^b	2,53±0,14 ^c	0,28± 0,02 ^a

Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

Ниската температура оказва по-слабо влияние върху съдържанието на каротиноидите в сравнение с хлорофилите. Негативният ефект върху тези пигменти е 24% при растенията от хибрида Кнежа 307 и значително по-малък и статистически недоказан – 4% при тези от P9528. Промените засягат не само съдържанието на общ хлорофил и каротиноиди, но и техните отношения. Отношението каротиноиди / хлорофили е с 38% по-високо в растенията от хибрида Кнежа 307 и с 22% при хибрида P9528.

Получените от нас резултати са в съответствие с данните на редица автори, изследвали съдържанието на фотосинтетичните пигменти в царевични растения при условия, близки с нашата експериментална постановка (Kosova et al., 2005; Leipner, 2009; Riva-Roveda et al., 2016).

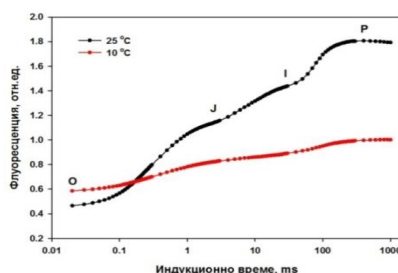
Пониженото хлорофилно съдържание може да бъде резултат, както от инхибирана биосинтеза, така и от ускорена деградация на хлорофила (Riva-Roveda et al., 2016; Leipner et al., 2009).

По-слабата инхибиция на каротиноидите в сравнение с хлорофилите в стресираните царевични растения, водеща до повишено отношение каротиноиди / хлорофили може да се обясни с допълнителната физиологична роля на тези пигменти – защитата на хлорофила от активни кислородни форми (АКФ). В изследванията на Kosova et al. (2005), Leipner et al. (2009) и Riva-Roveda et al. (2016) е установено, че съдържанието на общи каротиноиди в подложените на стресовото въздействие растения не се изменя съществено, подкрепяйки и нашите наблюдения.

Обективна информация за светлинно-зависимите фотосинтетични реакции може да се получи чрез анализи на хлорофилната флуоресценция (Гольцев и др., 2014). В нашите изследвания с царевични растения са използвани двата типа уреди за измерване на ХФ. С Handy-PEA е определена индукционната кинетика на ХФ, а с MINI-PAM - квантовият добив (Φ), фотохимичното (qP) и нефотохимично (qN) гасене на ХФ и др.

От получените резултати, представени на Фигура 3А, може да се види индукционната флуоресцентна крива на подложените на ниски температури царевични растения и факта, че значително се различава от тази на контролните растения.

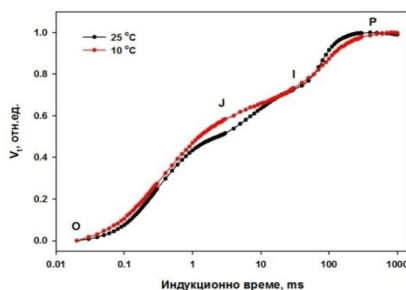
В стресираните растения точка О е разположена по-високо, а точка Р е съществено по-ниско от съответните нива при контролните растения. По същество, тези точки индикират началната (F_0) и максималната (F_m) стойности на хлорофилната флуоресценция. Нарастването на F_0 показва, че нискотемпературното въздействие намалява квантовата ефективност на ФС2, а понижаването на F_m вероятно е резултат на комплекс от причини, сред които е и намаленото хлорофилно съдържание на листата в стресираните растения.



Фигура 3А. Индукционни криви на хлорофилна флуоресценция (F), регистрирани при $3500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ФАР за 1 s в тъмнинно адаптирани листа от 14-дневни царевични растения (*Zea mays*): отгледани при ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) (контролни растения, черен цвят) и при ($10 \pm 1^\circ\text{C}$) (червено). Означени са характеристичните точки на кривите – О, J, I и Р, настъпващи съответно на 0.02, 2, 30 и ~ 300 ms след началото на измерването. На всяка точка съответства определено ниво на редуцираност на преносителите в ETR на тилакоидните мембрани – от 0% при О до 100% при Р.

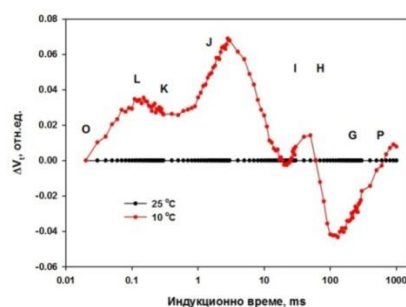
Резултатите на Фигура 3В, използвайки JР тестът на Strasser et. al. (2004), ни показват повишен J пик при стресираните растения, което означава намалена квантова ефективност на електронния транспорт от реакционните центрове на

ФС2 към електронните преносители от пластохиноновия (ПХ) пул. Повишаване на пика J в стресирани от ниска температура царевични растения е установено и от Franic et al. (2020), но авторите посочват, че се повишава и пика I, което се различава от нашите резултати.



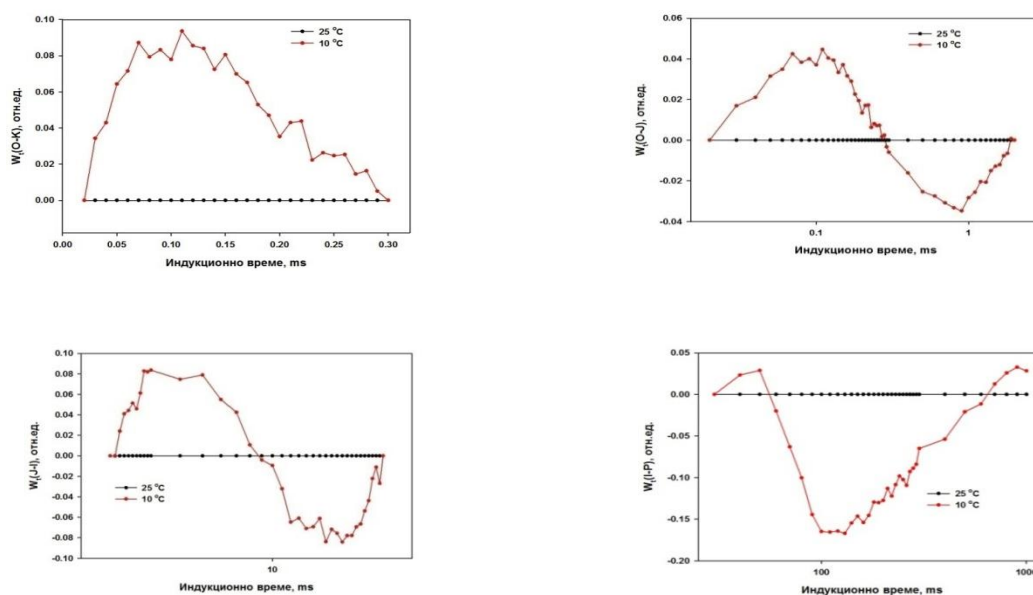
Фигура 3В. Индукционни криви на относителната вариабилна хлорофилна флуоресценция (V_t), получени след двойно нормализиране на стойностите от A към стойностите на O и P за всяка крива.

На Фигура 3С е показана диференциалната крива на разликата (ΔV_t) между V_t на стресираните растения и V_t на контролните растения. За по-подробен анализ на процесите, протичащи в определени времеви интервали по време на индукционния преход, можем да разглеждаме индивидуални части от ИК ($O - K$, $O - J$, $J - I$ и $I - P$).



Фигура 3С. Крива на разликата ΔV_t между V_t за стресираните и контролните растения, получена чрез изваждане на стойностите на стресираните растения от съответните стойности на контролните растения. Освен характерните точки O , J , I и P , са означени и междинните ивици L , K , H и G , обособяващи се в диференциалните криви приблизително при 0.1, 0.3, 50 и 100 ms.

Този подход позволява да се открият междинни ивици (локални минимуми и максимуми) по индукционно време, означени като L , K , H и G . Информацията, които те предоставят, е описана от Strasser et al. (2004) и Stirbet and Govindjee (2012) и Samborska et al. (2019). В достъпната литература липсват данни за промени във флуоресцентните ивици L , K , H и G в растения, подложени на нискотемпературен стрес, поради което получените резултати сравняваме с данни от изследвания с други стресови въздействия – тежки метали (Raupov et al., 2018), минерални дефицити (Samborska et al., 2019) и високи температури (Dimitrova et al., 2020).



Фигура 4. Диференциални криви на относителната вариабилна хлорофилна флуоресценция (W), двойно нормализирана в индукционните интервали: от О до К (А), от О до J (В), от J до I (С) и от I до Р (D), получени при изваждане на стойностите на стресираните растения от съответните стойности за контролните растения.

Ивицата L показва степента на свързаност между ССК2 и РЦ на ФС2. Проявата на положителна ивица означава, че свързаността между реакционните центрове и антенните комплекси намалява (Strasser and Stirbet, 2001; Stirbet, 2013). От добре изразения положителен L пик (Фигура 4А) се вижда, че свързаността между ССК2 и РЦ на ФС2 при подложените на нискотемпературен стрес растения е силно понижена при $10 \pm 1^\circ\text{C}$, което е в съответствие с повисокото О ниво на кривата във Фигура 3А. Идентично нарастване на L пика е отбелязано от Raupov et al. (2018) в пшенични растения, подложени на въздействие с тежки метали. Авторите свързват този ефект с понижен трансфер на възбудна енергия между съседни фотосинтетични единици и нарушено стекиране на тилакоидните мембрани, факти, които се наблюдават и при царевични растения, подложени на нискотемпературен стрес (Grzybowski et al., 2019).

Ивицата К отразява функционирането на донорната част на ФС2 и стабилността на кислород-отделящата система (KOC) (Strasser et al., 1996). В нашите измервания, К пик не се установи, защото диференциалната крива (Фигура 4В) изписа сигмоидален ход (положителен пик в началото и отрицателен пик в края). Първата ѝ част се припокрива с хода на кривата за L, т.е. положителният пик, регистриран в началото, фактически е силно изразения L пик. Липсата на положителен К пик показва, че нискотемпературното въздействие не е нанесло сериозни нарушения в кислород-отделящата система

(КОС) на стресираните царевични растения. В изследванията на Franic et al. (2020) с царевични растения е установен К пик, което вероятно се дължи на по-силното увреждане на фотосинтетичния апарат от по-ниската приложена температура (5°C).

Ивицата Н показва относителната големина на свободния пластохинов (ПХ) пул (Strasser and Tsimilli-Michael 1998), т.е. броя на достъпните за редукция ПХ молекули спрямо броя им при контролната крива. В стресираните царевични растения Н пик не се наблюдава (Фигура 4С), поради сигмоидалния характер на диференциалната крива. Този резултат може да се интерпретира като запазване на относителния обем на пула на електронните преносители между двете фотосистеми.

Ивицата G дава представа за ефективността на електронния транспорт към крайните акцептори на ФС1 (Strasser et al., 2004) и нейното относително съдържание (Серпи et al., 2012). Може да се допусне, че G отразява най-вече относителната големина на пула на НАДФ, който е достъпен за редукция: при положителна ивица – той е по-малък, а при отрицателна – по-голям спрямо контролата. В нашите изследвания се наблюдава добре изразен отрицателен G пик (Фигура 4D), т.е. при ниска температура броя на достъпните НАДФ молекули нараства. Сходни резултати са получени от Dimitrova et al. (2020) в изследвания с листа от италиански екотип чинар (*Platanus orientalis*), подложени на високотемпературен стрес.

Измерванията с MINI-РАМ в тъмнинно и светлинно адаптирани листа предоставят допълнителна информация за състоянието на фотосинтетичния апарат в изпиталите нискотемпературно въздействие царевични растения от хибридите Кнежа 307 и P9528.

Резултатите, представени в Таблица 6, показват, че стойностите на максималната фотохимична активност на ФС2 (F_v/F_m) в контролните растения е в интервала 0,75 - 0,83, характерен за здрави листа (Bolhar-Nordenkamp and Oquist, 1993). В стресираните растения F_v/F_m намалява, като този ефект е по-силно проявен в растенията от Кнежа 307 (с 15%) и по-слабо в P9528 (с 8%). Намаляването на F_v/F_m в изпиталите нискотемпературно въздействие растения се дължи на повишаването на F_0 и понижаването на F_m . Стойностите на F_0 и F_m не са представени, но посочените промени в тези показатели са отразени в представената на Фигура 3А индукционна флуоресцентна кинетика.

Понижение на F_v/F_m в стресирани от ниски температури царевични растения е установено от редица автори (Kosova et al., 2005; Yang et al., 2009; Riva-Roveda et al., 2016; Grzybowski et al, 2019; Salesse-Smith et al., 2019). Степента на инхибиране на F_v/F_m варира от много слаба (Yang et al., 2009) до умерена (Riva-Roveda et al., 2016; Grzybowski et al, 2019; Long et al., 1994) в зависимост силата и приложеното въздействие и толерантността на хибрида.

Таблица 6. Влияние на 7-дневно нискотемпературно въздействие върху хлорофилната флуоресценция при тъмнинно и светлинно адаптирани листа в млади царевични растения от хибрида Кнежа 307 и хибрида P9528. F_0 – минимална флуоресценция; F_m – максимална флуоресценция; F_v/F_m – потенциална фотохимична активност на ФСII; ETR – скорост на фотосинтетичния електронен транспорт; qP – фотохимично гасене и qN – нефотохимично гасене на хлорофилната флуоресценция.

Варианти	Хлорофилна флуоресценция			
	F_v/F_m	ETR	qP	qN
Кнежа 307				
Контрола 25°C	0,78±0,03 ^a	42,2±3,2 ^a	0,477±0,11 ^a	0,293±0,15 ^c
Стрес 10°C	0,66±0,02 ^c	23,8±5,1 ^b	0,446±0,06 ^b	0,577±0,10 ^a
P9528				
Контрола 25°C	0,78±0,03 ^a	38,1±3,0 ^a	0,420±0,20 ^c	0,241±0,08 ^d
Стрес 10°C	0,72±0,01 ^b	28,3±4,2 ^b	0,397±0,14 ^c	0,415±0,12 ^b

Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

В Таблица 6 са представени стойностите на скоростта на фотосинтетичния електронен транспорт (ETR), фотохимичното (qP) и нефотохимичното (qN) гасене на хлорофилната флуоресценция в анализирани царевични растения. Данните показват, че нискотемпературното въздействие понижава съществено ETR (с 44%) и много по-слабо qP (с 6%) в растенията от хибрида Кнежа 307. Съответните стойности при P9528 са 26% и 5%. Същевременно стойностите на qN нарастват значително – с 97% при Кнежа 307 и със 72% при P9528. Получените резултати показват, че ETR (респективно актуалният квантов добив Φ_{PS2}) в стресираните растения от двата хибрида е потиснат в значително по-висока степен в сравнение с F_v/F_m . От друга страна, основната част от погълната светлинна енергия се разсейва под формата на топлина, индикация за което е рязкото нарастване на qN . Наблюдаваните тенденции на изменение в разгледаните флуоресцентни параметри кореспондират с данните на Riva-Roveda et al. (2016), Grzybowski et al (2019) и Salesse-Smith et al. (2019) за царевични растения в условия на нискотемпературен стрес.

Нискотемпературното въздействие (7 дни, 10°C) върху царевични растения от новия български хибрид Кнежа 307 и хибрида P9528 понижава относителната им скорост на растежа (RGR). Негативният ефект е интегрален резултат от предизвикани нарушения в окислително-редукционния статус на растенията, фотосинтетичния процес и др.

2. Сравнително проучване на ефекти на листно приложени продукти върху физиолого-биохимични показатели на царевични растения

Влиянието на листни торове и биостимуланти при растения, подложени на нискотемпературен стрес, е проучено сравнително слабо (Polo et al., 2006; Marfà et al., 2009; Botta, 2013), а изследвания с царевични растения почти липсват. В следващите изследвания проучихме ефектите на листно приложени биостимуланти и торове върху царевични растения от хибрида Кнежа 307, подложени на нискотемпературно въздействие. В изследванията включихме 3 биостимулантни продукта (*Terra-Sorb Foliar*, *Naturamin WSP*, *Amino Expert Impuls* и 1 листен тор (*Polyplant*).

С цел да се провери хипотезата за възможно положително действие на листните продукти върху окислително-редукционния статус на стресираните царевични растения са проведени сравнителни изследвания между биостимуланта *Terra-Sorb Foliar* и водоразтворимия тор *Polyplant*. Нискотемпературното въздействие активира антиокислителната защитна система на царевичните растения в корените и в листата (Таблица 7). Общата антиоксидантна активност (ОАА) в органите на стресираните царевични растения се повишава със 134% в листата и с 14% в корените в сравнение с контролните растения.

Таблица 7. Ефекти на биостимуланта *Terra-Sorb Foliar* и на листния тор *Polyplant* върху общата антиоксидантна активност (%) в органите на царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие.

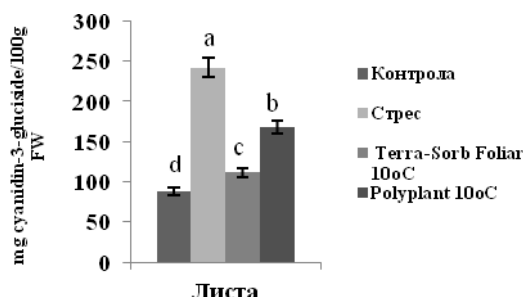
Варианти	Обща антиоксидантна активност (ОАА;%)	
	Листа	Корени
Контрола 25°C	27,1±0,6 ^c	11,7±0,1 ^b
Стрес 10°C	63,5±0,3 ^a	13,7 ±1,1 ^a
Terra-Sorb Foliar 10°C	47,3±0,2 ^b	10,3±0,5 ^c
Polyplant 10°C	59,2 ±1,2 ^a	10,0 ±0,1 ^c

Различните букви(a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P<0.05\%$.

Приложението на листните продукти *Terra-Sorb Foliar* и *Polyplant* понижава и ОАА в органите на царевичните растения. Стойностите на ОАА в обработените с *Terra-Sorb Foliar* растения са понижени с 25% в корените и листата, а в подхранените с *Polyplant* растения – с 27% и 7%, съответно. Тези резултати показват, че приложените листни продукти облекчават стресовото въздействие на ниските температури, в резултат на което се нормализира ОАА на органите в царевичните растения. Нискотемпературното въздействие повиши

съдържанието на антоциани в листата и на общи феноли в листата и корените на царевичните растения, което кореспондира с повишената им ОАА.

Конкретно, съдържанието на антоциани в листата на стресираните растения се повишава над 2 пъти, а на общи феноли - със 75% в листата и с 42% в корените. Получените резултати за акумулацията на антоциани и феноли кореспондират с резултатите на Zhou et al. (2018) в подложени на ниски температури тютюневи растения, както и с обобщените от Sharma et al. (2019) данни за влиянието на различни стресови фактори върху тези вторични метаболити.



Фигура 5. Ефекти на биостимуланта Terra-Sorb Foliar и на листния тор Polyplant върху съдържанието на антоциани (mg cyanidin-3-glucoside/100g FW) в листата на царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие. Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

Приложението на Terra-Sorb Foliar и на Polyplant понижава нивата на антоциани и общи феноли (Таблица 8) в стресираните царевични растения, което вероятно е причина за понижената им ОАА. Съдържанието на антоциани в листата на обработените с Terra-Sorb Foliar растения е с 54%, а в подхранените с Polyplant с 30% по-ниско от това в нетретираните растения.

Таблица 8. Ефекти на биостимуланта Terra-Sorb Foliar и на листния тор Polyplant върху съдържанието на общи феноли (mg GAE/g FW) в органите на царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие.

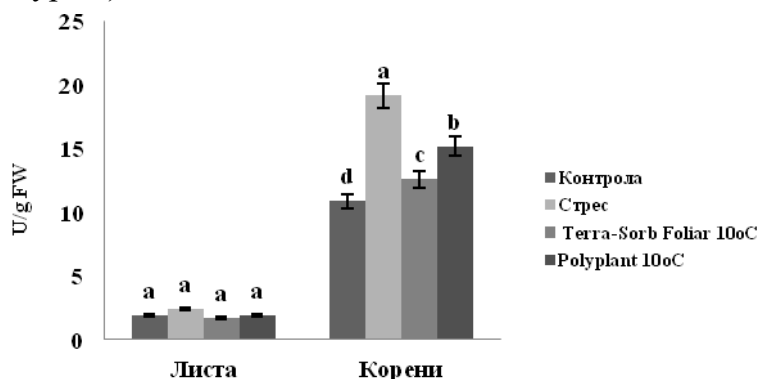
Варианти	Съдържание на общи феноли	
	Листа	Корени
Контрола 25 °C	6,1±0,8 ^b	4,3±0,5 ^b
Стрес 10 °C	10,7±0,2 ^a	6,1 ±1,5 ^a
Terra-Sorb Foliar 10°C	9,7±1,1 ^a	4,3±0,3 ^b
Polyplant 10°C	9,5±1,0 ^a	6,0±0,5 ^a

Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

Приложените листни продукти понижават общите феноли в органите на растенията. Наблюдава се тенденция към намаляване на тяхното съдържание, което е сходно в листата на обработените с Terra-Sorb Foliar (9%) и

подхранените с Polyplant растения (11%). Понижението на фенолите в корените на обработените с Terra-Sorb Foliar растения е по-силно изразено и статистически доказано (30%), а в корените на подхранените с водоразтворимия тор растения е несъществено (2%).

Въздействието с ниските температури повишава активността на гваякол пероксидазата (GPOD) в органите на царевичните растения, с 26% в листата и с 76% в корените (Фигура 6).



Фигура 6. Ефекти на биостимуланта Terra-Sorb Foliar и на листния тор Polyplant върху активността на ензима гваякол пероксидаза- GPOD (U/g FW) в органите на царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие. Различните букви(a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

В корените на обработените с Terra-Sorb Foliar растения активността на GPOD е намалена с 34%, а в листата с 39% спрямо нетретираните растения. Стойностите на GPOD в органите на подхранените с Polyplant растения са понижени в идентична степен, с 21%. Установените промени в активността на GPOD са в съответствие с измененията в съдържанието на неензимните антиоксиданти.

Активацията на антиокислителните ензими, в това число GPOD, при стресови въздействия е общоизвестен факт, цитиран многократно, в това число при въздействия с ниски положителни температури при царевични растения (Fryer et al., 1998; Leipner et al., 1999; Khorshidi and Moafi; 2014)

Получените резултати, най-общо, потвърждават хипотезата за положително въздействие на приложените листни продукти върху физиологичния статус на стресираните царевичните растения, тъй като антиоксидантния им потенциал се нормализира, а фотосинтетичната им активност се повишава. Очевидно, приложените листни продукти участват в процесите на аклимация на растенията към стресовото въздействие. Дискутират се няколко възможности, засягащи по какви точно механизми на действие се реализира този ефект.

Основните компоненти с антиокислителен потенциал в приложените листни продукти са свободните АК в биостимуланта Terra-Sorb Foliar и микроелементите Zn, Mn, Cu във водоразтворимия тор Polyplant.

Souri (2016) и Teixeira et al. (2017) считат, че приложението на АК понижава нивото на активни кислородни форми (АКФ), в резултат на което се редуцира окислителния стрес в растенията. Nahed et al (2010) показват, че листното приложение на АК повишава съдържанието на общите въглеводороди и полизахариди в стресираните растения, което увеличава възможностите за репарационни процеси. Sadak et al. (2015) и Sadak and Abdelhamid (2015) приемат, че екзогенните АК се включват в състава на важни протеини, които вземат участие в преодоляването на стресови въздействия.

От друга страна, Dimkra and Bindraban (2016) посочват важната роля на микроелементите в защитата на растенията от стресови фактори.

Подобреният физиологичен статус на стресираните от ниските температури царевични растения, в резултат на приложените листни продукти, е предпоставка за по-бързо възстановяване и растеж в следстресовия период. Това становище кореспондира с мнението на Riva-Roveda et al. (2016), че по-толерантните към ниски температури царевични хибриди се отличават с по-добър физиологичен статус, подготвен за бърз растеж (“ready to grow”) при възстановяване на подходящи температурни условия.

Влиянието на Amino Expert Impuls и неговите компоненти и сравнението на ПХ (*Terra-Sorb* и *Naturamin WSP*) върху царевичните растения оценихме чрез анализ на фотосинтетичните параметри.

Получените резултати от влиянието на Amino Expert Impuls и неговите компоненти се представени в Таблицы 9,10 и 11.

Таблица 9. Сравнителни ефекти на биостимуланта *Amino Expert Impuls* и неговите компоненти върху параметрите на листния газов обмен в млади царевични растения от хибрида *Кнежа 307*. А – скорост на нето фотосинтезата ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); Е – интензивност на транспирацията ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_s – устична проводимост ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) БС – биостимулант, ОК – органичен компонент, МК – минерален компонент.

Варианти	Листен газов обмен		
	А	Е	g_s
Контрола 25°C	17,39±1,14 ^a	1,16±0,42 ^a	0,07±0,00 ^a
Стрес 10°C	11,94±0,10 ^c	0,65±0,19 ^b	0,04±0,00 ^b
БС 10°C	14,00±0,18 ^b	0,87±0,15 ^b	0,04±0,00 ^b
ОК 10°C	14,04±0,18 ^b	0,82±0,15 ^b	0,04±0,00 ^b
МК 10°C	13,78±0,16 ^b	0,71±0,36 ^b	0,04±0,00 ^b

Различните букви(a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P<0.05\%$.

Нискотемпературното въздействие понижава параметрите на листния газов обмен в царевичните растения (Таблица 9). Приложението на биостимуланта *Amino Expert Impuls* и на неговите органичен и неорганичен

компонент възстановява, в известна степен скоростта на фотосинтезата (А) в стресираните растения, със 17%, 18% и 15%, съответно, но без достигане на стойността на контролните, нестресирани растения.

В Таблица 10 са представени резултати, отразяващи ефектите на нискотемпературното въздействие и на приложените листни продукти върху фотосинтетични пигменти в царевичните растения. Данните показват, че съдържанието на хлорофил (а+в) в стресираните растения е по-ниско с 36%, а съдържанието на каротиноиди с 24%, което отново кореспондира с предходните ни изследвания .

Таблица 10. Сравнителни ефекти на биостимуланта *Amino Expert Impuls* и неговите компоненти върху съдържанието и отношението между фотосинтетични пигменти в листата на млади царевични растени. БС – биостимулант, ОК – органичен компонент, МК – минерален компонент.

Варианти	Съдържание и отношение между фотосинтетични пигменти				
	Хл (а)	Хл (b)	Хл (а+в)	Каротин.	Хл (а+в)/ Каротин.
Контрола 25°C	3,59±0,33 ^a	0,86±0,05 ^a	4,45±0,25 ^a	1,36±0,12 ^a	3,27±0,14 ^a
Стрес 10°C	2,16±0,02 ^b	0,66±0,06 ^b	2,82±0,04 ^b	1,04±0,00 ^b	2,71±0,05 ^b
БС 10°C	2,36±0,12 ^b	0,75±0,04 ^b	3,11±0,09 ^b	1,23±0,07 ^b	2,53±0,09 ^b
ОК 10°C	2,30±0,04 ^b	0,70±0,01 ^b	3,00±0,06 ^b	1,14±0,00 ^b	2,63±0,00 ^b
МК 10°C	2,24±0,00 ^b	0,69±0,03 ^b	2,93±0,10 ^b	1,11±0,05 ^b	2,64±0,03 ^b

Различните букви(а, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

Прилагането на *Amino Expert Impuls* и на неговите компоненти оказва по-слаб лечебен ефект върху фотосинтетичните пигменти в третираните растения. Налице е тенденция към повишаване на тяхното количество в рамките от 4% до 10%.

В Таблица 10 са показани резултати, отразяващи промените във фотохимичните процеси в стресираните царевични растения.

Вижда се, че нискотемпературното въздействие понижава Fv/Fm, qP и ETR, а прилагането на *Amino Expert Impuls* оказва лечебно действие. По-конкретно, биостимулантът и органичният му компонент повишават ETR с 19% и 22%, съответно, а неорганичният компонент не е оказва съществен ефект.

Получените дотук резултати показват, че биостимулантът *Amino Expert Impuls* подобрява фотосинтетичната активност на царевичните растения, подложени на нискотемпературен стрес, като стимулиращият ефект върху фотосинтезата вероятно е интегрален резултат от действието на много биомолекули в състава на биостимуланта – АК, хормони, витамини и др. вещества.

Таблица 11. Сравнителни ефекти на биостимуланта *Amino Expert Impuls* и неговите компоненти върху параметри на хлорофилната флуоресценция в светлинно и тъмнинно адаптирани листа на млади царевични растения. F_v/F_m – потенциална фотохимична активност на ФС2; ETR – скорост на фотосинтетичния електронен транспорт ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); qP – фотохимично гасене; qN – нефотохимично гасене на хлорофилната флуоресценция. БС – биостимулант, ОК – органичен компонент, МК – минерален компонент.

Варианти	Хлорофилна флуоресценция			
	F_v/F_m	ETR	qP	qN
Контрола 25°C	0,773±0,25 ^a	48,4±4,02 ^a	0,789±0,45 ^a	0,397±0,25 ^a
Стрес 10°C	0,676±0,49 ^c	25,9±2,16 ^c	0,542±0,65 ^b	0,680±0,34 ^b
БС 10°C	0,739±0,62 ^b	30,8±2,23 ^b	0,568±0,36 ^b	0,633±0,16 ^b
ОК 10°C	0,719±0,44 ^b	31,5±2,40 ^b	0,579±0,14 ^b	0,518±0,36 ^b
МК 10°C	0,715±0,37 ^b	25,0±2,25 ^c	0,543±0,78 ^b	0,612±0,24 ^b

Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P < 0.05\%$.

Очевидно, задържащият ефект на ниските температури върху деленето и удължаването на клетките в меристемните зони на царевичните растения (Ben-Haj-Salah and Tardieu, 1995; Verheul et al., 1996) не може да бъде преодолян чрез биостимуланти и листни торове. Същевременно, подобрената фотосинтетична активност вероятно подпомага протичането на възстановителни и репарационни процеси в царевичните растения.

Получените от нас резултати кореспондират с наблюденията на други автори (Botta, 2013; Farooq et al., 2008a, 2008b; Ertani et al. 2013; Liu et al., 2008; Petrozza et al., 2014) и потвърждават потенциала на листните биостимуланти за подобряване на физиологичното състояние на растения в стресови условия.

Данните не дават основание да приемем, че между органичния и минералния компонент на *Amino Expert Impuls* има съществено синергитично взаимодействие. Тази констатация не кореспондира с мнението на Souri (2016), който счита, че листните продукти, съдържащи хелатирани с АК микроелементи, имат по-висок ефект в сравнение с „чистите“ минерални продукти. Причината за отсъствието на значителна синергия в действието на двата основни компонента на продукта, според нас, се дължи на високия минерален статус на царевичните растения в условията на хидропонното отглеждане, който понижава необходимостта от микроелементи.

Биостимулантите от групата на ПХ се различават по съдържанието на органичен азот, количеството на свободните АК, състава на АК и по други вещества, присъстващи в състава на продуктите.

В конкретните опити, двата биостимуланта са приложени в еднакъв обем върху растенията (около 1 ml за растение), но с различни концентрации (1% за

Terra-Sorb Foliar и 0.1% за *Naturamin – WSP*. По-ниската препоръчана концентрация на *Naturamin – WSP* е поради високата концентрация на свободни АК в продукта, която може да индуцира явлението „аминокиселинно инхибиране“ - потискане на усвояването на азота от корените (Ruiz et al., 2000).

В Таблица 12 са представени резултати за ефектите на двата продукта върху параметрите на листния газов обмен в царевичните растения. Вижда се, че инхибиращият ефект на ниските температури върху листния газов обмен е идентичен с установения в останалите опити.

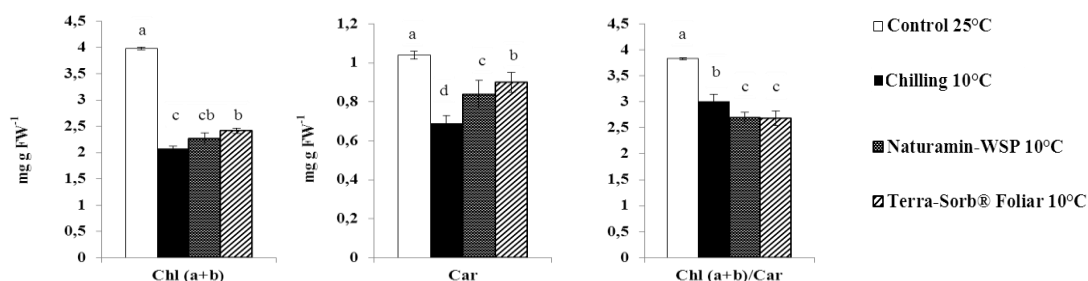
Таблица 12. Изпитване влияние на нискотемпературно въздействие ($10\pm1^{\circ}\text{C}$) и приложение на биостимуланти върху параметрите на листния газообмен на млади царевични растения от хибрида *Кнежа 307*. А – скорост на нето фотосинтезата ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); Е – интензивност на транспирацията ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_s – устична проводимост ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

Варианти	Листен газов обмен		
	А	Е	g_s
Контрола 25°C	16,9 $\pm$ 0,14 ^a	1,06 $\pm$ 0,03 ^a	0,08 $\pm$ 0,00 ^a
Стрес 10°C	11,9 $\pm$ 0,09 ^c	0,61 $\pm$ 0,00 ^c	0,04 $\pm$ 0,00 ^b
Naturamin WSP 10°C	12,9 $\pm$ 0,10 ^b	0,78 $\pm$ 0,01 ^b	0,05 $\pm$ 0,00 ^b
Terra-Sorb Foliar 10°C	13,6 $\pm$ 0,17 ^b	0,89 $\pm$ 0,04 ^b	0,05 $\pm$ 0,00 ^b

Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P<0.05\%$.

Данните показват, че приложените продукти оказват положителен ефект върху параметрите на листния газов обмен. Биостимулантът *Terra-Sorb Foliar* повишава стойността на А с 14%, а *Naturamin WSP* – с 8%. Двата продукта повишават идентично g_s , с 25%, а ефектът върху Е е още по-значителен. (с 28% и 46%).

Приложението на двата продукта повишава съдържанието на фотосинтетичните пигменти в стресираните царевични растения (Фигура 7).



Фигура 7. Ефекти на биостимулантите *Naturamin – WSP* и *Terra-Sorb Foliar* върху фотосинтетичните пигменти в листа на млади царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие. Различните букви (a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P<0.05\%$.

Положителният ефект върху общото съдържание на хлорофили е в рамките на 10-14%, а върху общите каротиноиди - 14-24%. Ефектът от биостимуланта *Terra-Sorb Foliar* върху съдържанието на общите каротиноиди е по-висок от този на *Naturamin WSP*.

Биостимулантите оказват положително действие и върху светлинно-зависимите процеси на фотосинтезата (Таблица 13). Максималната ефективност на ФС2 (F_v/F_m) в обработените с тях растения се повишава със 7%, но не достига нивото в контролните растения. Листното третиране увеличава съществено ETR (с 21-25%) и оказва слаб положителен ефект върху qP. Резултатите от проведеното изследване показват, че биостимулантите *Naturamin* – *WSP* и *Terra-Sorb Foliar* подобряват фотосинтетичната активност на царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие. Положителният им ефект е ясно изразен върху листния газов обмен, фотосинтетичните пигменти и скоростта на фотосинтетичния електронен транспорт ETR. Ефектът от *Terra-Sorb Foliar* има лек превес над този *Naturamin* – *WSP*, но разликите са малки и не позволяват формулирането на категорично заключение.

Таблица 13. Ефекти на биостимулантите *Naturamin* – *WSP* и *Terra-Sorb Foliar* върху параметрите на хлорофилната флуоресценция в листата на млади царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие. F_v/F_m – потенциална фотохимична активност на ФС2; ETR - скорост на фотосинтетичния електронен транспорт; qP – фотохимично гасене; qN – нефотохимично гасене на хлорофилната флуоресценция.

Варианти	Хлорофилна флуоресценция			
	F_v/F_m	ETR	qP	qN
Контрола 25°C	0,77±0,10 ^a	48,4±3,19 ^a	0,499±0,02 ^a	0,197±0,02 ^c
Стрес 10°C	0,67±0,04 ^b	35,5±1,00 ^c	0,454±0,00 ^b	0,431±0,09 ^a
Naturamin-WSP 10°C	0,72±0,07 ^a	42,9±2,20 ^b	0,475±0,06 ^a	0,409±0,10 ^b
Terra-Sorb Foliar 10°C	0,72±0,11 ^a	44,2±3,10 ^b	0,489±0,15 ^a	0,425±0,04 ^a

Различните букви(a, b, c) след средните стойности показват достоверни разлики при $P<0.05\%$.

Активните компоненти в съставите на двата продукта са свободни АК, нискомолекулни пептиди и микроелементи (само при от *Terra-Sorb Foliar*). За да проявят физиологичен ефект тези екзогенни вещества трябва да се погълнат от растителните тъкани. Поглъщането на микроелементите и свободните АК от листата е доказано (Fernández et al., 2013), но как проникват пептидите не е добре изяснено. Възможно е част от тях да се трансформират от филосферните микроорганизми до АК, както предполагат Colla et al. (2017).

Към настоящия момент преобладава мнението, че действието на ПХ е свързано предимно със свободните АК, но физиологични ефекти оказват и

нискомолекулулните пептиди. Например, Matsumiya and Kubo (2011) показват, че в ПХ с растителен произход е идентифициран нискомолекулен пептид, който предизвиква индукция на коренови власинки в рапични растения.

Микроелементите и другите вещества (АК, пептиди) могат да бъдат погълнати от листата, но да не проявят физиологичен ефект, ако са имобилизирани в апопластното пространство (Fernández et al., 2013). По-ясна представа за дейността на внесените в листата вещества дават радиометричните изследвания, но към настоящия момент сведенията са ограничени. Показано е, че листно приложена глутаминова киселина, белязана със стабилни изотопи (^{15}N , ^{13}C), се включва в биосинтезата на GABA (β -аминомаслена киселина) и пролин. И двете АК (GABA и пролин) имат съществена роля в защитата на растенията от стресови въздействия (Seifikalhor et al., 2019; Teixeira et al., 2017; Ali et al., 2019).

Стимулирането на фотосинтетичната активност на стресираните царевични растения при отсъствие на ефекти върху техния растеж, може да се обясни с използване на създадените фотоасимилати в други паралелни процеси. Такива могат да бъдат различни реакции, насочени към репарация, възстановяване на увредени структури. В нашите изследвания установихме, че 7-дни след приложението на листни продукти общата антиоксидантна активност в подложените на нискотемпературно въздействие царевични растения намалява. Тези резултати дават основания да допуснем, че внесените с биостимулантите вещества се използват в редица репарационни процеси в растенията. В съвременния етап на изследване липсват доказателства за положителни ефекти на конкретни АК върху стресирани от ниски температури растения, но такива са докладвани спрямо други видове стрес. Ali et al. (2019) обобщават, че екзогенното приложение на глутаминова киселина (50 μM) повишава толерантността на слънчоглед към осмотичен и солеви стрес. Същите автори посочват, че екзогенното приложение на пролин подобрява растежа, фотосинтезата и антиоксидантната активност на пшеница в условия на засушаване.

Листното приложение на биостимулантите *Terra-Sorb Foliar*, *Amino Expert Impuls* и *Naturamin – WSP* и на листния тор *Polyplant* оказва положително въздействие върху физиологичния статус на царевични растения, подложени на нискотемпературно въздействие, но не подобрява растежните им параметри (данните не са представени).

Приложените листни продукти подобряват фотосинтетичната активност на царевичните растения, отглеждани в условия на нискотемпературно въздействие. Положителният им ефект е ясно изразен върху листния газов обмен, фотосинтетичните пигменти и скоростта на фотосинтетичния електронен транспорт ETR. Конкретно, биостимулантът *Terra-Sorb Foliar* оказват

положително въздействие върху антиоксидантния потенциал на царевичните растения.

Налице са различия в степента на проявеното положително въздействие в зависимост от вида на продукта (листен тор и биостимулант), характера на компонентите в състава (органичен и неорганичен компонент), както и от индивидуалния състав на конкретния представител от групата на протеиновите хидролизати, но установените разлики в ефектите са сравнително малки и не позволяват формиране на общо заключение.

Подобреният физиологичен статус на стресираните от ниските температури царевични растения ни дава предпоставка да допуснем идеята за по-бързо възстановяване на растежа в следстресовия период. Последствието на приложените продукти в периода на възстановяване на царевичните растения не е обект на това изследване. Изказаната по-горе хипотеза обаче, можем да подкрепим въз основа на наблюденията ни върху визуалните промени във външния вид на растенията, в първите дни след снемане на нискотемпературното въздействие (Снимка 10). Вижда се, че в третираните с биостимуланти царевични растения отсъстват виолетови оцветявания по листата, които се наблюдават в нетретираните, но стресирани растения. В допълнение, листата на обработените с биостимуланти растения са по-големи и с по-добър тургор.



Снимка 10. Външен вид на царевични растения (3 дни) след преминаване на стресовия период (от нискотемпературно въздействие - 7 дни). Растенията са обработени с биостимуланти по време на нискотемпературния стрес, с изключение на Вариант 10°C (контрола).

VI. ИЗВОДИ

1. Приложеното нискотемпературно въздействие (7 дни, 10°C) понижава с 36-38% относителната скорост на растежа (RGR) на царевични растения от хибридите Кнежа 307 и P9528 в сравнение с установената при оптимален температурен режим (25 / 20 °C; ден / нощ). Инхибиращият ефект е съпроводен с хлоротично изжълтяване в основата на листата. При продължителен нискотемпературен стрес (14 дни) върху част от листата се появява виолетово оцветяване, което се наблюдава (3 дни) след преминаване на стресовото въздействие..

2. Негативното влияние на ниската положителна температура е интегрален резултат от предизвикани нарушения в окислително-редукционния статус на царевичните растения, минералното им хранене и фотосинтетичния процес. В стресираните растения нараства активността на ензима гваякол пероксидаза (GPOD), липидната пероксидация, електролитното изтичане от листата, а намалява съдържанието на макро- и микроелементи, но без достигане на критични минерални нива.

3. Приложената ниска температура понижава функционалната активност на царевичните растения, оценена чрез биоелектрическата им реакция (БЕР), още на първия ден от въздействието, като ефектът се засилва до 3 ден. След този период настъпват аклимационни промени, израз на които са повишаването на общата антиоксидантна активност (ОАА), поради по-високо съдържание на общи феноли и антоциани в растенията, както и ефективното разсейване на излишната възбудна енергия чрез нефотохимично гасене (нарастване на qN) и „разгрупиране“ на светосъбиращите комплекси (ССК2) от реакционните центрове (РЦ) на фотосистема 2 (повишава на F_0).

4. Нискотемпературно въздействие намалява с над 60% скоростта на нето фотосинтезата (A) в царевичните растения. Негативният ефект е следствие на пониженото съдържание на фотосинтетичните пигменти, потисна скорост на фотосинтетичния електронен транспорт (ETR) и основно на нарушенията в биохимичните реакции от цикъла на Калвин. Косвените доказателства за това твърдение са по-слабото използване на крайните продукти на светлинната фаза НАДФН и АТФ, израз на който е ясно изразения отрицателен G пик в индукционната флуоресцентна кинетика на стресираните растения и ефективното разсейване на излишната възбудна енергия (нарастване на qN). В допълнение, скоростта на нето фотосинтезата (A) се лимитира и от силно потиснатия растеж на царевичните растения, поради промяна в донорно-акцепторните им отношения.

5. Младите царевични растения от новия български хибрид Кнежа 307 се отличават с по-силно нарушен физиологичен статус в условия на нискотемпературно въздействие в сравнение с растенията от хибрида P9528, поради което ги характеризираме като по-чувствителни към този вид стрес.

6. Листното приложение на биостимулантите Terra-Sorb Foliar, Naturamin – WSP и Amino Expert Impuls и на листния тор Polyplant по време на нискотемпературното въздействие не подобрява растежа на царевичните растения, но оказва положително въздействие върху физиологичния им статус.

7. Положителните ефекти на приложените листни продукти върху подложените на нискотемпературен стрес царевични растения се проявяват чрез подобряване на листния газов обмен (A , E , g_s), повишаване съдържанието на фотосинтетични пигменти и активиране на фотосинтетичния електронен транспорт (ETR). Биостимулантът Terra-Sorb Foliar оказва положително въздействие върху окислително-редукционния статус на растенията.

8. Положителното действие на приложените биостимуланти и торове зависи от вида на продукта, характера на компонентите в състава на биостимуланта, както и от индивидуалния състав на конкретния протеинов хидролизат, но установените разлики между тях са сравнително малки.

9. Подобреният физиологичен статус на стресираните от ниските температури царевични растения е предпоставка за по-бързо възстановяване на растежа в следстресовия период.

10. Продуктът Terra-Sorb Foliar не оказва съществен стимулиращ ефект върху растежа и физиологичния статус на царевичните растения, отглеждани при оптимален температурен режим.

VII. НАУЧНИ И НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ

1. Чрез анализ на индукционната кинетика на хлорофилната флуоресценция съгласно Strasser et al. (2004), за първи път в изследвания царевични растения е показано, че ниските положителни температури понижават свързаността между светосъбиращите комплекси (ССК2) и реакционните центрове (РЦ) на фотосистема 2 (ФС2) и увеличават относителния пул на достъпните електронни акцептори на ФС 1 (НАДФ молекули) и нейното относително съдържание.
2. Чрез използване на електрофизиологичен метод на Паничкин и др. (2009), за първи път е проследена биоелектрическата реакция на царевични растения към нискотемпературно въздействие, в резултат на което е установено, че функционалната им активност се понижава още на първия ден, спадът нараства до третия ден и се стабилизира на това ниво в следващия период поради настъпване на аклимационни процеси.
3. Чрез комплекс от физиологични и биохимични параметри е показано, че новият български хибрид царевица Кнежа 307 има висока чувствителност към ниски положителни температури в началния период на растежа и развитието на културата.
4. Установено е, че листното приложение на биостимулантите Terra-Sorb Foliar, Naturamin – WSP и Amino Expert Impuls и на листния тор Polyplant по време на нискотемпературното въздействие не подобрява растежа на царевичните растения, но оказва положително въздействие върху физиологичния им статус, което е предпоставка за по-бързо възстановяване на растежа в следстресовия период.

VIII. ЛИТЕРАТУРНИ ИЗТОЧНИЦИ

1. Воденеев, В. А., 2009. Механизмы генерации и функциональная роль потенциалов возбуждения у высших растений. Автореферат докторской диссертации.
2. Гольцев, В. Н., М. Каладжи, М.А. Кузманова, С. И. Аллахвердиев, 2014. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений. М.-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 220 с.
3. Паничкин, Л. А., Г. А. Прудников, М. С. Красавина, 2009. Усовершенствования метода электрофизиологической диагностики холодоустойчивости растений. Известия ТСХА, 4, 133-137.
4. Славова Г. 2015. Производство на царевица в Европа, България и света, възможности и тенденции на развитие. Изв. СУ-Варна. 57-64.
5. Томов, Т., Г. Рачовски, Св. Костадинова, Ив. Манолов., 1999. Ръководство за упражнения по агрохимия, Пловдив: Академично издателство на ВСИ, 1999
6. Aguilera C, Stirling CM, Long SP., 1999. Genotypic variation within Zea

mays L. for susceptibility to and rate of recovery from chill-induced photoinhibition of photosynthesis. *Plant Physiology* 106, 429–436. doi: 10.1034/j.1399-3054.1999.106411.x

7. Ali, Q., H. Athar, M. Haider, S. Shahid, N. Aslam, F. Shehzad, J. Naseem, R. Ashraf, A. Ali, S. Hussain, 2019. Role of Amino Acids in Improving Abiotic Stress Tolerance to Plants, 175-202. In: *Plant Tolerance to Environmental Stress* (Eds., M. Hasanuzzaman, M. Fujita, H. Oku, M. Islam) CRC Press, <https://doi.org/10.1201/9780203705315>

8. Aroca R., P. Vernieri, J.J. Irigoyen, M. Sanchez-Diaz, F. Tognoni, A. Pardossi, 2003. Involvement of abscisic acid in leaf and root of maize (*Zea mays* L.) in avoiding chilling-induced water stress. *Plant Sci.* 165: 671-679

9. Aroca, R., G. Amodeo, S. Fernandez-Illescas, E. Herman, F. Chaumont, M. Chrispeels, 2005. The Role of Aquaporins and Membrane Damage in Chilling and Hydrogen Peroxide Induced Changes in the Hydraulic Conductance of Maize Roots. *Plant Physiology*, 137, 341–353

10. Aroca, R., J. Irigoyen, M. Sanchez-Diaz, 2001. Photosynthetic characteristics and protective mechanisms against oxidative stress during chilling and subsequent recovery in two maize varieties differing in chilling sensitivity. *Plant Science* 161, 719–726

11. Ben-Haj-Salah H, Tardieu F., 1995. Temperature affects expansion rate of maize leaves without change in spatial distribution of cell length. *Plant Physiology* 109, 861–870.

12. Bergmeyer H. U. & Bernt, E., 1974. *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H. U., Ed,) Vol. 3, 1205-1215, Academic Press, New York, London

13. Bolhar-Nordenkamp, H.R., & Oquist, G., 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: *Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual* (Eds. D. O. Hall, J. M. O. Scurlock, h. R.

14. Botta, A., 2012. Enhancing plant tolerance to temperature stress with amino acids: an approach to their mode of action. *Acta Hort.* 1009, 29–35.

15. Bradačova, K., N. Weber, N. Moradtalab, M. Asim, M. Imran, M. Weinmann, G. Neumann, 2016. Micronutrients (Zn/Mn), seaweed extracts, and plant growth-promoting bacteria as cold-stress protectants in maize. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 3:19. DOI 10.1186/s40538-016-0069-1

16. Cavani, L.; Halle, A.T.; Richard, C.; Ciavatta, C., 2006. Photosensitizing properties of protein hydrolysate-based fertilizers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 9160 -9167.

17. Ceppi M.G., A. Oukarroum, N. Çiçek, R. J. Strasser, G. Schansker, 2012. The IP amplitude of the fluorescence rise OJIP is sensitive to changes in the photosystem I content of leaves: a study on plants exposed to magnesium and sulfate deficiencies, drought stress and salt stress. *Physiol. Plantarum*, 144, 277-288

18. Colla, G., L. Hoagland, M. Ruzzi, M. Cardarelli, P. Bonini, R. Canaguier, Y. Rouphael, 2017. Biostimulant Action of Protein Hydrolysates: Unraveling Their Effects on Plant Physiology and Microbiome. *Front. Plant Sci.* 8:2202. doi: 10.3389/fpls.2017.02202

19. De Lucia, B., and Vecchietti, L., 2012. Type of bio-stimulant and application method effects on stem quality and root system growth in L.A. Lily. *Europ. J. Hort. Sci.* 77, 10–15. Available online at: <http://www.jstor.org/stable/24126519>

20. Demmig-Adams B., 1990. Carotenoids and photoprotection in plants. A role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochim. Biophys. Acta* 1020: 1-24

21. Dimitrova, A., M. Paunov, V. Pawlova, K. Dankov, M. Kouzmanova, V. Velikova, Ts. Tsonev, H. Kalaji, V. Goltsev, 2020. Analysis of photosynthetic efficiency in

leaves of two ecotypes *Platanus orientalis* L. at room temperature and after treatment at moderately high temperature. *Photosynthetica* (in press)

22. Dimkpa, C., P. Bindraban, 2016. Fortification of micronutrients for efficient agronomic production: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA, 36 (1), pp.7. [ff10.1007/s13593-015-0346-6](https://doi.org/10.1007/s13593-015-0346-6). [ffhal-01532372f](https://doi.org/10.1515/afsd-2015-0032)

23. Ertani, A., M. Schiavon and S.Nardi, 2017. Transcriptome-Wide Identification of Differentially Expressed Genes in *Solanum lycopersicon* L. In Response to an Alfalfa-Protein Hydrolysate Using Microarrays. *Front. Plant Sci.* 8, 1159, doi: [10.3389/fpls.2017.01159](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01159)

24. Ertani, A., Schiavon, M., Muscolo, A., and Nardi, S., 2013. Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed *Zea mays* L. plants. *Plant Soil* 364, 145–158. doi: [10.1007/s11104-012-1335-z](https://doi.org/10.1007/s11104-012-1335-z)

25. Farooq M, Aziz T, Hussain M, Rehman H, Jabran K, Khan MB ., 2008b. Glycinebetaine improves chilling tolerance in hybrid maize. *Journal of Agronomy and Crop Science* 194, 152–160. doi: [10.1111/j.1439-037X.2008.00295.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2008.00295.x)

26. Farooq M., T. Aziz, Z. A. Cheema, M. Hussain and A. Khaliq 2008a. Activation of Antioxidant System by KCl Improves the Chilling Tolerance in Hybrid Maize; *Journal of Agronomy and Crop Science*; Volume 194, Issue 6, pages 438–448,

27. Farooq, M., T. Aziz, A. Wahid, D-J. Lee, K. Siddique, 2009. Chilling tolerance in maize: agronomic and physiological approaches. *Crop & Pasture Science*, 2009, 60, 501–516

28. Farooq, M., T. Aziz, S. Basra, M. Cheema, H.Rehman, 2008c.Chilling Tolerance in Hybrid Maize Induced by Seed Priming with Salicylic Acid. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194, 2, 161 – 168. [10.1111/j.1439-037X.2008.00300.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2008.00300.x)

29. Farquhar, G.D.; S. Von Caemmerer, J. A. Berry, 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta*, 149, 78–90

30. Fernández, V., and Brown, P. H., 2013. From plant surface to plant metabolism: the uncertain fate of foliar-applied nutrients. *Front. Plant Sci.* 4:289. doi: [10.3389/fpls.2013.00289](https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00289)

31. Fryer M, Andrews J, Oxborough K, Blowers D, Baker N. 1998. Relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport, and active O₂ metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature. *Plant Physiology* 116: 571–580.

32. Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E., 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E., Eds., *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, F1.2.1.-F1.2.13.

33. Grabowska A, Kunicki E, Sełkara A, Kalisz A, Wojciechowska R. 2012. The effect of cultivar and biostimulant treatment on the carrot yield and its quality. *Veg Crop Res Bull.* 77:37– 48.

34. Grzybowski, M., J. Adameczyk, M. Jończyk, A. Sobkowiak, J. Szczepanik, K. Frankiewicz, J. Fronk, P. Sowiński, 2019. Increased photosensitivity at early growth as a possible mechanism of maize adaptation to cold springs. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 70, No. 10 pp. 2887–290

35. Guan,Y., Z. Li, F. He, Y. Huang, W. Song, J. Hu, 2015. “On-Off” Thermoresponsive Coating Agent Containing Salicylic Acid Applied to Maize Seeds for Chilling Tolerance. *PLoS ONE* 10 (3), e0120695.doi:[10.1371/journal.pone.0120695](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120695)

36. Hacisalihoglu, G., S. Kantanka, N. Miller, J. Gustin, A. Settles, 2018. Modulation of early maize seedling performance via priming under sub-optimal

temperatures. PLoS ONE, 13, (11): e0206861.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206861>

37. Haldimann P., 1999. How do changes in temperature during growth affect leaf pigment composition and photosynthesis in *Zea mays* genotypes differing in sensitivity to low temperature? *Journal of Experimental Botany*, Vol. 50, No. 333, pp. 543–550

38. Haldimann P., 1997. Chilling-induced changes to carotenoid composition, photosynthesis and the maximum quantum yield of photosystem II photochemistry in two maize genotypes differing in tolerance to low temperature. *J Plant Physiol*;151:610–9.

39. Haldimann, P., 1998. Low growth temperature-induced changes to pigment composition and photosynthesis in *Zea mays* L. genotypes differing in chilling sensitivity. *Plant, Cell and Environment* 21,200–208. doi:10.1046/j.1365-3040.1998.00260.x

40. Heath, R. L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 125 189-198.

41. Hodges, D. M., Ch. Andrews, D. A. Jonson, R. Hamilton, 1997. Antioxidant compound responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines. *Physiologia Plantarum*, 98 (4), 685-692.

42. Huang, J., J. Zhang, W. Li, W. Hu, L. Duan, Y. Feng, F. Qiu, B. Yue, 2013. Genome-wide Association Analysis of Ten Chilling Tolerance Indices at the Germination and Seedling Stages in Maize. *J Integrative Plant Biol*.

43. Kaspar TC, Bland WL, 1992. Soil temperature and root growth. *Soil Science* 154, 290–299. doi: 10.1097/00010694-199210000-00005

44. Kiel C, Stamp P., 1992. Internal root anatomy of maize seedlings (*Zea mays* L.) as influenced by temperature and genotype. *Annals of Botany* 70, 125–128.

45. Kosov, K., D. Haisel, I. Tich, 2005. Photosynthetic performance of two maize genotypes as affected by chilling stress. *Plant Soil Environ.*, 51, 5, 206–212

46. Leipner J, Fracheboud Y, Stamp P. 1999. Effect of growing season on the photosynthetic apparatus and leaf antioxidative defenses in two maize genotypes of different chilling

47. Leipner, J. 2009. Chilling stress in maize: from physiology to genetics and molecular mechanisms. Habilitation thesis. ETH Zurich, 124 pages. <https://doi.org/10.3929/ethz-a-005794605>

48. Lichtenthaler, H.K., 1988. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods enzymol.*, 148, 350-382

49. Liu, Rui-Xian, Zhou, Z., Guo, W., Chen, B., & Oosterhuis, D., 2008. Effects of N fertilization on root development and activity of water-stressed cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plants. *Agricultural Water Management*, vol. 95, issue 11, 1261-1270.

50. Lobell, D., G. Asner, 2003. Climate and management contributions to recent trends in US agricultural yields. *Science*, 299: 1032–1032. doi:10.1126/science.1077838.

51. Long, S.P., S. Humphries, P. G. Falkowski, 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45, 633–662.

52. Long, S.P., A. K. Spence, 2013. Toward cool C4 crops. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 701–722

53. Lukatkin A. S., Isaikina E. E., 1997. Calcium status and chilling injury in maize seedlings. *Russian Journal of Plant Physiology*, 44, 3, 339–342.

54. Lukatkin, A. S., 2003. Contribution of Oxidative Stress to the Development of Cold-Induced Damage to Leaves of Chilling-Sensitive Plants: 3. Injury of Cell

Membranes by Chilling Temperatures. Russian Journal of Plant Physiology, Vol. 50, No. 2, 2003, pp. 243–246

55. Lutatkin, A. S., A. Brazaityte, Č. Bobinas, P. Duchovskis, 2012. Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review. Agriculture, 99, 2, 111–124.

56. Marfà O., Cáceres R., Polo J., Ródenas J., 2009. Animal Protein Hydrolysate as a Biostimulant for Transplanted Strawberry Plants Subjected to Cold Stress. Acta Hort. 842, 315–318.

57. Markowski, A. G. Skrudlik, 1995. Electrolyte Leakage, ATP Content in Leaves and Intensity of Net Photosynthesis in Maize Seedlings at Permanent or Different Daily Exposure to Low Temperatures. Journal of Agronomy and Crop Science, 175, 2, 109–117.

58. Matsumiya Y., Kubo M., 2011. Soybean peptide: novel plant growth promoting peptide from soybean, in *Soybean and Nutrition*, ed. El-Shemy H. (Rijeka: InTech Europe Publisher;), 215–230 10.5772/19132 [CrossRef] [Google Scholar]

59. Miedema P., 1982. The effects of low temperature on Zea mays. Advances in Agronomy 35, 93–128. doi: 10.1016/S0065-2113(08)60322-3

60. Miedema, P., J. Sinnaeve, 1980. Photosynthesis and Respiration of Maize Seedlings at Suboptimal Temperatures. Journal of Experimental Botany, 31, 3, Pages 813–819. <https://doi.org/10.1093/jxb/31.3.813>

61. Moradtalab, N., M. Weinmann, F. Walker, B. Höglinger, U. Ludewig, G. Neumann, 2018. Silicon Improves Chilling Tolerance During Early Growth of Maize by Effects on Micronutrient Homeostasis and Hormonal Balances. Front. Plant Sci. 9, 420. doi: 10.3389/fpls.2018.00420

62. Nahed, G., AbdelAziz, A.A., Mazher, M., Farahat, M.M., 2010. Response of vegetative growth and chemical constituents of Thuja orientalis L. plant to foliar application of different aminoacids at Nubaria. Journal of American Science 6, 3, 295–301

63. Nardi, S., D. Pizzeghello, M. Schiavon, A. Ertani, 2016. Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. Sci. Agric. 73, 1, 18–23

64. Pastori G, Foyer CH, Mullineaux P. 2000. Low temperature-induced changes in the distribution of H₂O₂ and antioxidants between the bundle sheath and mesophyll cells of maize leaves. Journal of Experimental Botany 51: 107–113.

65. Paunov, M., L. Koleva, A. Vassilev, J. Vangronsveld, V. Goltsev, 2018. Effects of different metals on photosynthesis: cadmium and zinc affect chlorophyll fluorescence in durum wheat. Int. J. Mol. Sci., 19 (3), 787; doi:10.3390/ijms19030787

66. Petrozza, A., Santaniello, A., Summerer, S., Di Tommaso, G., Di Tommaso, D., Paparelli, E., 2014. Physiological responses to Megafol® treatments in tomato plants under drought stress: a phenomic and molecular approach. Sci. Hortic. 174: 185–192.

67. Pietrini F, Ianneli MA, Battistelli A, Moscatello S, Loreto F, Massacci A (1999) Effects on photosynthesis, carbohydrate accumulation and regrowth increase in maize genotypes with different sensitivity to low temperature. Australian Journal of Plant Physiology 26, 367–373.

68. Polo J., Barroso R., Ródenas J., 2006. Porcine Hemoglobin Hydrolysate as a Biostimulant for Lettuce Plants Subjected to Conditions of Thermal Stress. HortTechnology 16, 483–487.

69. Reimer, R., 2010. Responses of maize (Zea mays L.) seedlings to low and high temperature: association mapping of root growth and photosynthesis-related traits, dissertation ETH No. 18807. PhD thesis, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland.

70. Ribas-Carbo M1, Aroca R, González-Meler MA, Irigoyen JJ, Sánchez-Díaz

M. 2000. The electron partitioning between the cytochrome and alternative respiratory pathways during chilling recovery in two cultivars of maize differing in chilling sensitivity. *Plant Physiol.* 2000 Jan;122(1):199-204

71. Riva-Roveda, L., B. Escale, C. Giauffret, C. Périlleux, 2016. Maize plants can enter a standby mode to cope with chilling stress. *BMC Plant Biology*, 16, 212; DOI 10.1186/s12870-016-0909-y

72. Rodríguez, V., A. Butrón, G. Sandoya, A. Ordás, P. Revilla, 2007. Combining Maize Base Germplasm for Cold Tolerance Breeding, *Crop Science*, 47, 4, 1467-1474

73. Ruiz J. M., N. Castilla, I. Romero, 2000. Nitrogen metabolism in pepper plants applied with different bioregulators. *J. Agric. Food Chem.* 48 2925–2929 10.1021/jf990394h

74. Sadak, M., M. Abdelhamid, 2015. Influence of aminoacids mixture application on some biochemical aspects, antioxidant enzymes and endogenous polyamines of *Vicia faba* plant grown under sea water salinity stress. *Gesunde Pflanze*, 67, 119–

75. Salaby EA, Shanab SMM., 2013. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining of antioxidant of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian J Geo-Marine Sci* 42:556-564

76. Salesse-Smith, C. E., R. E. Sharwood, F. A. Busch, D. B. Stern, 2019. Increased Rubisco content in maize mitigates chilling stress and speeds recovery, *Plant Biotechnology Journal*, 1–12.

77. Samborska, I., H. M. Kalaji, L. Sieczko, W. Borucki, R. Mazurek, M. Kouzmanova, V. Goltsev, 2019. Can just one-second measurement of chlorophyll a fluorescence be used to predict sulphur deficiency in radish (*Raphanus sativus* L. sativus) plants? *Current Plant Biol* 19: 100096, 2019.

78. Schiavon, M., Ertani, A., Nardi, S., 2008. Effects of an alfalfa protein hydrolysate on the gene expression and activity of enzymes of TCA cycle and N metabolism in *Zea mays* L. *J. Agric. Food Chem.* 56, 11800–1180

79. Seifikalhor, M., S. Aliniaieifard, B. Hassani, V. Niknam, O. Lastochkina, 2019. Diverse role of γ -aminobutyric acid in dynamic plant cell responses. *Plant Cell Rep.*, 38, 8, 847-867. doi: 10.1007/s00299-019-02396-z.

80. Sharma, A., B. Shahzad, A. Rehman, R. Bhardwaj, M. Landi, B. Zheng, 2019. Response of Phenylpropanoid Pathway and the Role of Polyphenols in Plants under Abiotic Stress, *Molecules*, 24, 2452; doi:10.3390/molecules24132452

81. Sharma, P., A. Jha, R. Dubey, M. Pessarakli, 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, ID 217037, doi:10.1155/2012/217037

82. Singleton VL, Rossi JA 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult* 16: 144-158.

83. Sobkowiak, A., M. Jończyk, J. Adamczyk, J. Szczepaniak, D. Solecka, I. Kuciara, K. Hetmańczyk, M. J. Trzcinska-Danielewicz, M. Grzybowski, M. Skoneczny, J. Fronk, P. Sowiński, 2016. Molecular foundations of chilling-tolerance of modern maize. *BMC Genomics* 17, 125, <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2453-4>

84. Souri, M., 2016. Amino chelate fertilizers: The new approach to the old problem; A review. *Open Agriculture* 1, 1, 118–123 Folli-Pereira, M., A. Ramos, G. Canton, J. Conceição, S.

85. Stamp P., 1984. Chilling tolerance of young plants demonstrated on the example of maize (*Zea mays* L.). In 'Advances in agriculture and crop science Vol. 7'. (Ed. G Geisler) pp. 1–84. (Paul Parey: Berlin)

86. Stirbet A., Govindjee, 2012. Chlorophyll a fluorescence induction: a

personal perspective of the thermal phase, the J-I-P rise. – *Photosynth. Res.* 113: 15-61, 2012.

87. Stirbet, A., 2013. Excitonic connectivity between photosystem II units: what is it, and how to measure it? *Photosynth. Res.* 116, 189-214, 2013.

88. Strasser R.J., A. D. Stirbet A.D., 2001. Estimation of the energetic connectivity of PS II centres in plants using the fluorescence rise O–J–I–P: Fitting of experimental data to three different PS II models. *Math. Comp. Sim.*, 56, 451-462, 2001.

89. Strasser R.J., M. Tsimilli-Michael, 1998. Activity and heterogeneity of PSII probed in vitro by the chlorophyll a fluorescence rise O-(K)-JIP. – In: G. Garab (ed) *Photosynthesis: mechanisms and effects* .

90. Strasser R.J., P. Eggenberg P., B. J. Strasser, 1996. How to work without stress but with fluorescence. *Bull. Royal Soc. Liege* 65, 330-349, 1996

91. Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A., 2004. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. – In: Papageorgiou G., Govindjee (ed.): *Chlorophyll a Fluorescence: a Signature of Photosynthesis*. pp. 321-362. Springer. Dordrecht, The Netherlands 2004

92. Teixeira WF, Fagan EB, Soares LH, Umburanas RC, Reichardt K, Dourado-Neto D., 2017. Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. *Front Plant Sci* 8:1–14

93. Verheul MJ, Picatto C, Stamp P., 1996. Growth and development of maize (*Zea mays* L.) seedlings under chilling conditions in the field. *European Journal of Agronomy* 5, 31–43. doi: 10.1016/S1161-0301(96)02007-2

94. Verheul MJ, Hasselt PRV, Stamp P., 1995. Comparison of maize inbred lines differing in low temperature tolerance effect of acclimation at suboptimal temperature on chloroplast functioning. *Annals of Botany* 76, 7–14. doi: 10.1006/anbo.1995.1072

95. Wang, L-J., P. Zhang, R-N. Wang, P. Wang, S-B. Huang, 2018. Effects of variety and chemical regulators on cold tolerance during maize germination. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(12): 2662–2669

96. Wijewardana, C., M. Hock, B. Henry, K. R. Reddy, 2015. Screening Corn Hybrids for Cold Tolerance using Morphological Traits for Early-Season Seeding. *Crop Sci.* 55:851–867. doi: 10.2135/cropsci2014.07.0487

97. Wijewardana, C., W. B. Henry, M. W. Hock, and K. Raja Reddy, 2016. Growth and physiological trait variation among corn hybrids for cold tolerance. *Can. J Plant Sci.*, 96, 639-656.

98. Yang, J., Q. Kong, C. Xiang, 2009. Effects of low night temperature on pigments, chl a fluorescence and energy allocation in two bitter melon (*Momordica charantia* L.) genotypes. *Acta Physiol Plant*, 31:285–293

99. Zaidi, P.H., M. Yadav, P. Maniselvan, R. Khan, T.V. Shadakshari, R.P. Singh, D. Pal, 2010. Morpho-physiological traits associated with cold stress tolerance in tropical maize (*Zea mays* L.). *Maydica*. 55: 201-208.

100. Zhou, P., Q Li, G. Liu, N. Xu, Y. Yang, W. Zeng, A. Chen, S. Wang, 2018. Integrated analysis of transcriptomic and metabolomic data reveals critical metabolic pathways involved in polyphenol biosynthesis in *Nicotiana tabacum* under chilling stress. *Funct. Plant Biol.* 2018, 46, 30–43.

Публикации във връзка с дисертационния труд

1. Cholakova-Bimbalova R., A. Vassilev, 2015. Influence of low temperatures on the growth and macronutrient content in young maize plants. Scientific Works, Agricultural University – Plovdiv, vol. LIX, book 2, 87-94.

2. Cholakova-Bimbalova R., A. Vassilev, 2017. Effect of chilling stress on the photosynthetic performance of young plants from two maize (*Zea mays* L.) hybrids. CBU International Conference Proceedings, vol. 2017, 1118-1123. March 22-24, Prague, Czech Republic

3. Росица Чолакова-Бимбалова, 2017. Влияние на листен тор и на неговите компоненти върху толерантността на млади царевични растения изпитали ниски температури. Научни трудове на Института по земеделие Карнобат (под печат)

4. Cholakova-Bimbalova R., L. Koleva, A. Vassilev, 2018. Effects of a biostimulant and a mineral fertilizer on the antioxidative defence system of chilling-exposed maize plants. Agricultural Sciences, 33-39.

5. Cholakova-Bimbalova R, V. Petrov, A. Vassilev, 2019. Photosynthetic performance of young maize (*Zea mays* L.) plants exposed to chilling stress can be improved by the application of protein hydrolysates. Acta Agrobotanica, 72 (2):1769. <https://doi.org/10.5586/aa.1769>

Участия в научни конференции

1. Jubilee Scientific Conference with International Participation Traditions and Challenges of Agricultural Education, Science and Business, 2017, 29-31, October. Agricultural University Plovdiv (статия 1)

2. CBU International Conference Proceedings, 2017, March 22-24, Prague, Czech Republic (статия 2)

3. Proceedings conference of agronomy students with international participation, Casak, 2017, 23-25 August. Cholakova-Bimbalova R. and A. Vassilev, 2017. Доклад: Influence of biostimulants on growth and photosynthetic performance of young maize plants exposed to chilling stress

4. Международна научна конференция „Устойчиво развитие на земеделието – приоритет на съвременната аграрна наука“, Институт по земеделие – Карнобат“, 2017

5. Международная научная конференция молодых ученых и специалистов, посвященная 150-летию со дня рождения В.П. Горячкина, Москва, 2018, 6-7 июня. Постер: Evaluation of the effect of biostimulant use for amelioration of chilling stress in young maize plants (*Zea mays* L.)