

УДК 631.411.4.001.2

ПОИСК ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ  
СРЕДИ ПРИРОДНЫХ ФИТОГОРМОНОВ

Г. А. БАТАДКИН

Стимулирующее действие гуминовых кислот на рост и развитие растений неоднократно пытались объяснить присутствием в составе этих гетерогенных соединений веществ, обладающих активностью витаминов, органических кислот и фитогормонов. С этой целью проводили сравнительную оценку физиологической активности гуминовых и других биологически активных веществ на доступных исследователю биотестах. Однако отсутствие критериев в выборе биотестов приводило к получению противоречивых результатов.

Для таких классов регуляторов роста, как гиббереллины, цитокинины, ауксины и природные ингибиторы роста типа абсцизинов коллективом авторов [1, 2] разработан комплексный метод их определения по биотестам, отличающимся высокой чувствительностью, специфичностью и стандартистостью. Поэтому использование таких биотестов позволяет провести обоснованный поиск физиологических аналогов гуминовых кислот среди эндогенных фитогормонов.

## Материалы и методы

Ауксиновую активность гуминовых кислот исследовали по следующим биотестам: образование корней у стеблевых черенков фасоли обыкновенной [3] и удлинение отрезков coleoptилей пшеницы сорта Альбидум 43 [4]. Повторность 5-кратная. Каждая повторность содержала по 10 черенков фасоли и 10 отрезков coleoptилей.

Цитокининовую активность гуминовых кислот определяли по образованию амарантина в семядолях щирцы (*Amarantus caudatus* L.) [5] и хлорофилла в семядолях огурцов сорта Сигнал [6]. Для повышения чувствительности метода использовали спектрофотометрическое определение содержания хлорофилла. Для этого ацетоновый экстракт семядолей пропускали через фильтр Шотта (№ 3) и в фильтрате определяли содержание хлорофилла на СФ-26А при 662 и 644 нм. Концентрацию хлорофилла ( $X_{662} + X_{644}$ ) рассчитывали по Хольму-Ветштейну [7]. Повторность 5-кратная. Каждая повторность содержала 15 и 10 семядолей щирцы и огурцов соответственно.

Гиббереллиновую активность гуминовых кислот изучали по биотесту с проростками салата сорта Берлинский [8]. Повторность 5-кратная. Каждая повторность содержала 10 проростков салата.

Способность гуминовых кислот обладать активностью природных ингибиторов роста типа абсцизинов определяли по биотестам с семенами горчицы сорта Скороспелка [ 9 ] и отрезками coleoptилей пшеницы сорта Альбидум 43 / 4 /. Повторность - 5-кратная. Каждая повторность содержала 50 семян горчицы и 10 отрезков coleoptилей,

В качестве веществ, обладающих эталонной активностью, использовали индолил-3-уксусную кислоту ("Serva"), кинетин ("Lachema", ЧССР), гиббереллин А<sub>3</sub> (Курганский комбинат "Синтез") и натриевую соль гуминовых кислот (гумат натрия), полученных из низинного, осоково-тростникового торфа в лабораторных условиях.

Статистическую обработку результатов проводили согласно Г.Н.Зайцеву [ 10 ].

#### Результаты

Предварительно проведенные эксперименты показали, что на биотесте с фасолью индолилуксусная кислота в концентрации 60 мг/л стимулировала образование корней у стеблевых черенков фасоли. Количество образовавшихся корней превышало контроль в 2,8-3,2 раза. Поэтому в дальнейшей работе индолилуксусную кислоту использовали только в концентрации - 60 мг/л.

В отличие от ауксина гуминовые кислоты не изменяют корнеобразующую способность черенков фасоли (табл. 1). Дополнительный показатель - сухая масса образовавшихся корней - также указывает на различие в действии гумата натрия и индолилуксусной кислоты.

В экспериментах с coleoptилями пшеницы было установлено, что в варианте индолилуксусной кислотой (1 мг/л) длина отрезков coleoptилей была в 2 раза больше, чем в контроле, а в варианте с гуматом натрия (0,1-200 мг/л) статистически достоверно не отличалась от контроля.

Кинетин на биотестах с семядолями щирцы и огурцов оказывал существенное стимулирующее воздействие в концентрациях 1 и 10 мг/л соответственно. Содержание амарантина в семядолях щирцы повышалось почти в три раза, а хлорофилла в семядолях огурца почти в 1,5 раза. В отличие от кинетина гумат натрия не изменял биосинтеза амарантина и хлорофилла (рис. 1, табл. 2). Дополнительный показатель - масса семядолей огурца - также свидетельствует о различии в действии кинетина и гумата натрия.

Как видно из табл.3, гиббереллин значительно стимулировал рост гипокотилей салата, увеличивая их длину на 42% по сравнению с контролем. Гумат натрия в отличие от гиббереллина не вызывал достоверных изменений длины гипокотилей салата.

Таблица I

Влияние гумата натрия на образование корней  
у стеблевых черенков фасоли обыкновенной

Вариант опыта	Концентрация, мг/л	Количество образовавшихся корней $M \pm m_{at}$	%	Сухая масса корней, мг	%
Контроль		32±2	100	113,5	100
Индол-3-уксусная кислота	60	91±9	284	207,4	183
Гумат натрия	1	31±6	97	116,0	102
	10	34±6	106	120,0	106
	50	25±4	78	127,0	112
	100	29±4	91	117,0	103
	500	28±4	88	116,0	102

Примечание. Здесь и далее  $M \pm m_{at}$  - доверительный интервал при  $P = 0,95$

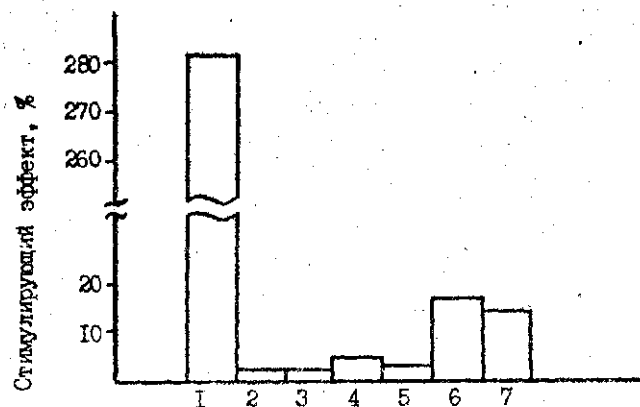


Рис. I. Влияние гумата натрия на биосинтез антоциана у фирицы:

1 - контроль, 1 мг/л; 2-7 - гумат натрия в концентрациях, мг/л: 2 - 5; 3 - 10; 4 - 50; 5 - 100; 6 - 500; 7 - 1000

Таблица 2  
Влияние гумата натрия на массу семян огурцов  
и содержание в них хлорофилла

Вариант опыта	Концентрация, мг/л	Содержание хлорофилла в сырой массе семян, мкг/г	%	Сырая масса семян, мг	%
		$M \pm m \cdot dt$		$M \pm m \cdot dt$	
Контроль		166,4 $\pm$ 16,7	100	99,4 $\pm$ 7,8	100
Кинетин	10	244,4 $\pm$ 7,9	147	217,4 $\pm$ 14,0	218
Гумат натрия	10	162,0 $\pm$ 9,6	97	100,9 $\pm$ 10,2	102
	50	168,4 $\pm$ 7,4	101	103,5 $\pm$ 7,7	104
	100	153,6 $\pm$ 8,2	92	94,6 $\pm$ 14,6	95
	500	161,8 $\pm$ 16,3	109	109,4 $\pm$ 13,5	109

Таблица 3  
Влияние гумата натрия на удлинение гипокотилей салата

Вариант опыта	Концентрация, мг/л	Длина гипокотилей, мм	%
		$M \pm m \cdot dt$	
Контроль		19,80 $\pm$ 1,80	100,0
Гиббереллин, 5 мг/л Гумат натрия	10	28,10 $\pm$ 1,67	142,0
	5	20,67 $\pm$ 0,87	104,4
	10	20,57 $\pm$ 0,69	103,9
	50	20,11 $\pm$ 1,82	101,6
	100	19,90 $\pm$ 1,16	100,5
	500	22,26 $\pm$ 1,59	112,4

Эксперименты, проведенные с семенами горчицы, показали, что абсцизовая кислота (0,5 мг/л) значительно ингибировала прорастание семян. Подобного действия гумата натрия не наблюдалось даже в таких высоких концентрациях, как 5000 мг/л. На биотесте с coleoptилами пшеницы, как уже отмечалось, гумат натрия не изменял длины отрезков coleоптилей.

Таким образом, данные, полученные по различным биотестам, включенным в состав комплексного метода определения природных регуляторов роста, свидетельствуют, что гуминовые кислоты не имеют физиологических аналогов среди природных фитогормонов.

## Обсуждение результатов

Интерес к поиску физиологических аналогов гуминовых кислот связан с вопросом о природе "действующего начала" их биологической активности. Имеющиеся в литературе сведения о способности гуминовых кислот обладать активностью эндогенных регуляторов роста противоречивы. Это может определяться проблемой выбора биотеста, несколько десятков которых разработано в настоящее время для каждого из классов фитогормонов.

Биотесты, включенные в состав комплексного метода [1, 2] обладают высокой чувствительностью только к фитогормонам определенного класса, то есть отличаются от других биотестов специфичностью. Это позволяет исключить или значительно уменьшить опасность принять один фитогормон за другой. На других возможных биотестах, применяемых для обнаружения фитогормональной активности, специфичность которых изучена мало, может наблюдаться аналогия конечного результата физиологического действия тестируемых веществ, что не может однозначно указывать на близость их механизма действия. Данные, полученные на таких биотестах, в какой-то мере могут указывать на близость хозяйственно-полезных свойств тестируемых веществ. Однако из-за возможных различий механизма их действия совпадения таких свойств может иметь скорее случайный, чем закономерный характер.

Отсюда можно понять противоречивость сведений о способности гуминовых кислот обладать активностью эндогенных фитогормонов. Так, по данным Сена и Шарма [11], полученным на семядолях *Meghelia Aegyptia* (Linn.) Urban (масса, площадь, содержание хлорофилла, ширина устьиц), действие гуминовых кислот отличается от действия цитокининов и гиббереллинов. Это противоречит данным, которые получены на других биотестах Тхим и Хонг Кимом Фуонгом [12], по мнению которых гуминовые кислоты обладают активностью ауксинов, цитокининов и гиббереллинов. Способность гуминовых кислот удлинять кончик гороха [13] и снимать действие 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты [14] указывает на ауксиновую активность исследуемых веществ.

Даже в ходе одного исследования, проведенного Какко и Дель-Агнеллой [15], были получены исключаящие друг друга результаты. Так, биотесты на изгиб стебля гороха (ауксиновый тест [16]) и образование хлорофилла в семядолях огурцов (цитокининовый тест [6]) показали, что у гуминовых кислот нет фитогормональной активности. Наоборот, биотесты с кресс-салатом (ауксиновый тест

[ 16 ] ) и старением листовых дисков (цитокининовый тест [ 16 ] ) показали гормональную активность исследуемых веществ. Из этих биотестов только тест на образование хлорофилла в семядолях огурцов включен в состав комплексного метода, и полученные на нем результаты согласуются с нашими.

Следует отметить, что имитация гуминовыми кислотами фитогормональной активности может быть обусловлена их влиянием на содержание в растениях эндогенных фитогормонов. Так, повышение содержания цитокининов, гиббереллинов, ауксинов гуминовыми кислотами наблюдалось у сахарной свеклы [ 17 ], хлопчатника [ 18 ], а гиббереллинов еще и в проростках огурцов, томатов и кукурузы [ 19 ]. Подобный эффект может быть связан с антиоксидантными свойствами гумусовых веществ [ 20 ], так как известно, что антиоксиданты предохраняют фитогормоны от инактивации [ 21 ].

#### Пристатейный библиографический список

1. КЕБЕЛИ В.И., ЧАЙЛАХЯН М.Х., ТУРЕЦКАЯ Р.Х. и др. Комплексный метод определения природных фитогормонов: биотесты // Физиология растений. 1975. Т.22. Вып.6. С.1291-1298.
2. ВЛАСОВ П.В., МАЗИН В.В., ТУРЕЦКАЯ Р.Х. и др. Комплексный метод определения природных регуляторов роста. Первичный анализ незрелых семян кукурузы на активность свободных ауксинов, гиббереллинов и цитокининов с помощью биотестов // Физиология растений. 1979. Т.26. Вып.3. С.648-655.
3. ТУРЕЦКАЯ Р.Х. Метод определения активности ростовых веществ на корнеобразование // Доклады АН СССР. 1947. Т.УП. № 3. С.296-297.
4. БОЯРКИН А.Д. Новый метод количественного определения активности ростовых веществ // Доклады АН СССР. 1947. Т.УП. № 2. С.197-200.
5. МАЗИН В.В., ШИШОВА Л.С., АНДРЕЕВ Л.Н. и др. Специфичность влияния кинетина на образование амарантина у щирицы (*Amaranthus caudatus* L.) и на рост каллуса семядоли сои (*Glycine soja* L.) // Доклады АН СССР. 1976. Т.231. № 2. С.506-509.
6. Fletcher R.A., McCullagh D. Cytokinin-induced chlorophyll formation in cucumber cotyledons // *Planta*. 1971. v.101. N1. P.88-90.
7. Методы биохимического анализа растений / Под ред. В.В.Полевого и Г.Б.Максимова. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1978. С.98.
8. АГНИСТИКОВА В.Н. Определение гибберелловой кислоты по ростовой реакции проростков // Методы определения регуляторов роста и гербицидов. М.: Наука. 1966. С.93-99.
9. НИКОЛАЕВА Н.Г., ДАЛЕЦКАЯ Т.В. // Труды Бот. ин-та АН СССР. 1963. Т.16. Сер.4. С.17-22.
10. ЗАЩЕВ Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. 1964. М.: Наука. 424 с.

11. Sen D.W. and Sharma K.D. Role Cytokinins and Certain Growth Regulators on Excised Cotyledons of *Merremia aegyptia* (Linn.) Urban// *Biochem. Physiol. Pflanzen.* -1972. Bd. 163. No. P.556-561.

12. Tichy V. and Hoang Kim Phuong. Investigations on humus formation in lignocellulose. Biological activity of humus substances from decayed wood as studied by means of growth bioassays// *Scripta Fac. Sci. Nat. USEP Brunensis// Biologija.* 1977. N7. C. 109-118.

13. O'Donnell R.W. The auxin-like effects of humic preparations from Leonardite// *Soil Science.* 1973. V. 116. N2. P. 106-112.

14. Sharma K.D. and Sen D.N. Reversal of the effect of 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid by humic acid// *Z. Pflanzenphysiol.* 1971. V. 63. S. 81-84.

15. Cacco G. and Dell'Agnolla G. Plant growth regulators activity of soluble Humic complexes// *Can. J. Soil Science.* 1984. V. 64. N3. P. 225-228.

16. Audus L.J. Plant growth substances. 1972. Leonard Hill. London.

17. Sladky Z., Sladky K. The effect of Humic acid on the level of endogenous growth regulators in sugar beet// *Studies about Humus. Trans. Intern. Symp. "Humus et Manta V", Prague.* 1971. V. 2. P. 571-574.

18. БОЗОВА Л., ТОРЕВ А. Влияние на маточните води и хуминовите киселини върху оксидазни реакции и биосинтеза на гиберелини в растителни прорестъци // *Почвоведение и агрохимия.* 1972. У. 7. № 2. P. 43-50.

19. СТАНЧЕВ Л.Б., МАШЕВ Н.П. Влияние на хуминовите киселини върху някои ендогенни растителни вещества в памуковите растения // *Растителна наука.* 1980. У. ХП. № 6. С. 12-17.

20. ПИВОВАРОВ Д.Р. Биологические свойства и функции гуминовых кислот // *Гумус и растения / Тез. докл. Межд. симп. (ЧССР). Прага, 1983. Т. 2. С. 396.*

21. Рост растений и дифференцировка. М.: Наука, 1981. 275 с.

УДК 581.13 + 631.811.98.001.2

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОСТУПЛЕНИЯ ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ В РАСТЕНИЯ

Д.Р. ПИВОВАРОВ, В.С. ЗАЛЕВСКИЙ, Л.Н. КУЛИК, А.М. КОВАЛЕВ

Наблюдаемый в эксперименте биологический эффект, вызываемый гумусовыми кислотами, до настоящего времени не нашел общепризнанного физиологического объяснения. Существующие по этому поводу точки зрения противоречивы и во многом спорны [2, 5, 9-11, 16]. Существенным недостатком этих гипотез является допущение, что гумусовые кислоты поступают в растение и так или иначе включаются