

ВЛИЯНИЕ ГУМУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПОСТРАДИАЦИОННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ГОРОХА

Л. Ф. БОБЫРЬ, Л. Н. РЕВА, В. А. РЕУТОВ

Рентгеновское облучение семян в больших дозах оказывает ингибирующее влияние на фотосинтетические процессы растений: нарушается синтез пигментов, падает фотохимическая активность хлоропластов, меняется сопряженность транспорта электронов и фосфорилирования и т. д. (1). В то же время есть данные о стимуляции фотосинтеза с помощью веществ гумусовой природы (2, 3).

Целью настоящей работы являлось определение возможности снятия пострадиационного ингибирования фотосинтетической деятельности растений при помощи гумусовых веществ.

Для изучения указанных вопросов определялось влияние гумусовых веществ и облучения на пигментную систему, интенсивность ассимиляции CO_2 листьями гороха, фотохимическую активность хлоропластов, индукционные переходы флуоресценции хлорофилла А, урожай.

Методика

Вегетационный опыт (1974 г.) был заложен в песчаной культуре на полной питательной смеси Прянишникова. Объектом исследования служил горох сорта Рамонский. Сухие семена облучали на установке ГУБЭ-4000 при мощности дозы 800 р/мин., затем замачивали их в течение 48 часов в растворе гуматов натрия, полученных из осоково-тростникового торфа Замглайского месторождения (4). Контролем служили семена, замоченные в воде. Содержание пигментов определялось спектрофотометрически, количество ассимилированной углекислоты — в аппарате Варбурга при концентрации CO_2 0,8%, температуре 26°С, освещенности 15 тысяч люкс. О фотохимической активности хлоропластов судили по реакции Хилла, скорость которой определяли на спектрофотометре СФ-4А по восстановлению 2,6-ДХФИФ (8). Хлоропласты выделяли по West, Wiskiche (9). Реакционную камеру освещали проекционными лампами (10 тыс. люкс) в течение 2 мин. Определение хлорофилла в хлоропластах проводили по Арнону (10). Для изучения индукционных переходов флуоресценции хлорофилла А *in vivo* была собрана установка (рис. 1). Флуоресценцию возбуждали светом $\lambda = 380-620$ нм и регистрировали в области $\lambda = 640-720$ нм. Приемником флуоресценции служил фотоэлектронный умножитель ФЭУ-38. Кинетику индукционных переходов записывали на электронном самописце КСП-4. Лист растения перед записью адаптировали в темноте 3 мин.

Результаты и обсуждение

Данные таблицы 1 показывают, что облучение семян дозой 5 кр снижало содержание хлорофиллов (А и В) и каротиноидов. Замачивание семян в 0,005%-ном растворе гуматов натрия повышало концентрацию этих пигментов в листьях как без облучения, так и при облучении семян.

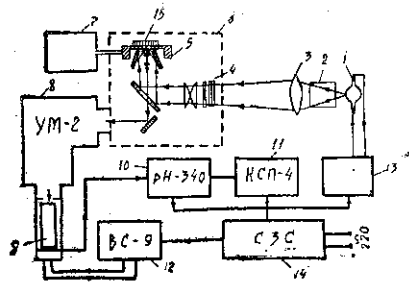


Рис. 1. Схема установки для записи кинетики флуоресценции листьев: 1 — ртутная лампа ДРШ-250; 2 — тепловой фильтр (вода); 3 — конденсор; 4 — светофильтры (380—620 м); 5 — термостатируемый столик; 6 — светозащитный кожух; 7 — ультратермостат; 8 — монохроматор УМ-2; 9 — фотоэлектронный умножитель ФЭУ-38; 10 — усилитель постоянного тока рН-340; 11 — самолисец КСП-4; 12 — блок питания фотоумножителя ВС-9; 13 — блок питания постоянного тока к лампе ДРШ-250; 14 — стабилизатор сетевого напряжения СЗС; 15 — лист растения.

В литературе имеется много сравнительно однозначных данных, свидетельствующих о положительном влиянии гуматов натрия на содержание пигментов. Следует, однако, отметить, что исследования пигментной системы, не подкрепленные другими показателями фотосинтетической активности, много теряют в своей ценности. Известны случаи, когда на фоне понижения концентрации пигментов фотосинтетическая деятельность активизируется, и наоборот (5).

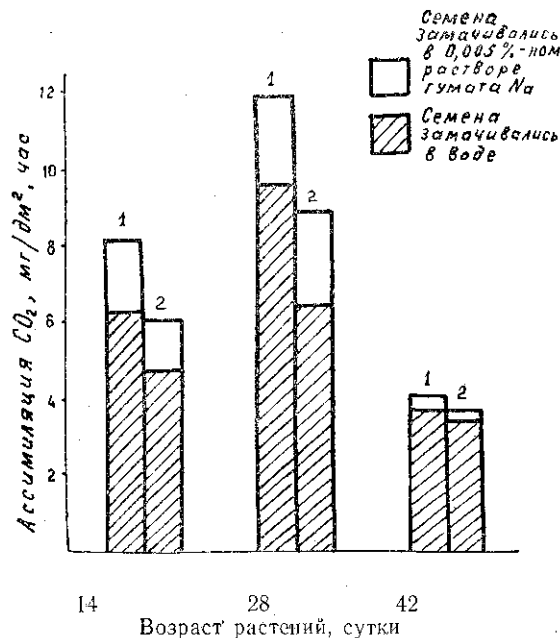


Рис. 2. Влияние облучения и гуматов натрия на интенсивность ассимиляции CO₂:

1 — семена не облучались; 2 — семена облучались дозой 5 кр.

На рис. 2 видно, что облучение семян гороха дозой 5 кр снижает ассимиляцию CO₂ листьями. Под влиянием гуматов натрия ассимиляция увеличивается, благодаря чему интенсивность фотосинтеза у облученных растений почти приближается к контролю. Количество пигмен-

Влияние рентгеновского облучения и предпосевного замачивания семян
в 0,005%-ном растворе гуматов натрия на содержание пигментов в листьях, мг %

Доза об- лучения, кр	Среда замачивания семян	Возраст растений и концентрация пигментов, мг %											
		14 суток				28 суток				42 суток			
		ХлА	ХлВ	$\frac{\text{ХлА}}{\text{ХлВ}}$	кароти- ноиды	ХлА	ХлВ	$\frac{\text{ХлА}}{\text{ХлВ}}$	кароти- ноиды	ХлА	ХлВ	$\frac{\text{ХлА}}{\text{ХлВ}}$	кароти- ноиды
0	H ₂ O	190	61	3,11	53	240	85	2,82	69	200	69	2,89	53
	0,005%-ный гумат натрия	210	101	2,08	76	270	128	2,11	102	240	113	2,12	85
5	H ₂ O	120	42	2,8	37	180	63	2,8	68	150	52	2,9	46
	0,005%-ный гумат натрия	150	74	2,0	51	220	109	2,0	83	186	91	2,0	76

тов в листьях коррелирует с интенсивностью ассимиляции CO_2 , однако линейной зависимости не наблюдается.

Исходя из гипотезы Л. А. Христовой (6) о влиянии физиологически активных веществ гумусовой природы на электронтранспортную цепь клеточных органелл, было исследовано влияние гуматов натрия и облучения на реакцию Хилла. Для этого из листьев гороха в те же сроки, что и в предыдущих исследованиях, выделялись хлоропласты. О их фотохимической активности судили по восстановлению 2,6-ДХФИФ, так как реакция Хилла характеризует в какой-то мере скорость транспорта электронов в электронтранспортных цепях хлоропластов. Полученные результаты (табл. 2) показывают, что облучение семян дозой 5 кр замедляет реакцию Хилла. Предпосевное замачивание семян в 0,005%-ном растворе гуматов натрия активирует ее как без облучения, так и при облучении. Особенно заметно эффект сказывается в фазе цветения (28 суток).

Таблица 2

Влияние облучения и замачивания семян гороха в растворе гуматов натрия на реакцию Хилла

Среда замачивания семян	Восстановление 2,6-ДХФИФ, мкМ/мг хлороф. час					
	14 суток		28 суток		42 суток	
	0 кр	5 кр	0 кр	5 кр	0 кр	5 кр
Вода	64	64	90	80	31	22
0,005%-ный раствор гуматов натрия	71	74	115	108	47	40

Кроме определения интенсивности реакции Хилла в различных вариантах облучения и замачивания семян, измерялось изменение этой реакции и при непосредственном внесении гуматов натрия в реакционную среду (табл. 3, 4).

Таблица 3

Влияние гуматов натрия на реакцию Хилла при их внесении непосредственно в реакционную среду (семена замачивали в воде)

Концентрация гуматов натрия в реакц. среде	Восстановление 2,6-ДХФИФ, мкМ/мг хлороф. час					
	14 суток		28 суток		42 суток	
	0 кр	5 кр	0 кр	5 кр	0 кр	5 кр
0	64	64	90	80	31	22
0,005%-ный раствор	75	77	147	134	69	51
0,05%-ный раствор	25	37	129	132	26	20

Таблица 4

Влияние гуматов натрия на реакцию Хилла при их внесении непосредственно в реакционную среду (семена замачивали в 0,005%-ном растворе гуматов натрия)

Концентрация гуматов натрия в реакционной среде	Восстановление 2,6-ДХФИФ, мкМ/мг хлороф. час					
	14 суток		28 суток		42 суток	
	0 кр	5 кр	0 кр	5 кр	0 кр	5 кр
0	71	74	115	108	47	40
0,005%-ный раствор	77	71	156	143	68	60
0,05%-ный раствор	50	21	143	130	41	32

Из данных табл. 3 и 4 видно, что в малой концентрации (0,005%) гуматы натрия стимулировали реакцию Хилла, а с увеличением концентрации (0,05%) — ингибировали. Эффективность влияния гуматов натрия при непосредственном внесении их в реакционную среду была выше в вариантах, где семена замачивались в воде.

Чтобы получить дополнительные сведения о действии физиологически активных гумусовых веществ на электронтранспортную цепь хлоропластов, было исследовано их влияние на индукционные переходы флуоресценции хлорофилла А *in vivo*. Известно, что индукционные переходы флуоресценции хлорофилла А определяются как скоростью электронного транспорта за счет окислительно-восстановительных превращений первичного акцептора электронов, фотосистемы II, так и эффективностью реакции фотофосфорилирования. В последнем случае предполагается, что тушение обусловлено конформационными изменениями мембран тилакоидов, вызванное накоплением промежуточного высокоэнергетического соединения, образующегося при активном транспорте H^+ (7).

Изучение влияния облучения и гуматов натрия на индукционные переходы флуоресценции листьев проводили в следующем порядке: лист растения помещался на термостатируемый столик ($25^{\circ}C$), адаптировался в темноте три минуты, затем включался свет возбуждения и велась запись кинетики индукционных переходов.

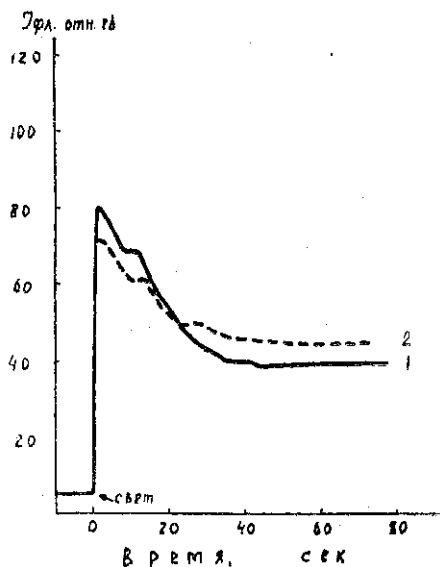


Рис. 3. Характер индукционных переходов флуоресценции листьев (семена замачивались в воде):
1 — семена не облучались; 2 — семена облучались дозой 5 кр.

В результате опытов (рис. 3, 4) пришли к выводу, что предпосевное замачивание семян в растворе гуматов натрия способствует усилению индукционных переходов флуоресценции листьев в вариантах как без облучения, так и с облучением. Это подтверждает, что физиологически активные гумусовые вещества влияют (косвенно или непосредственно) на окислительно-восстановительное состояние первичного акцептора электронов фотосистемы II. Надо иметь в виду, что при изучении индукционных переходов флуоресценции листьев интерпре-

тация полученных результатов усложняется, т. к. на переходы влияет активность ферментов, видовая специфика растений и т. п. (8, 11). Однако, анализируя полученные результаты по влиянию гуматов натрия на интенсивность ассимиляции CO_2 , реакцию Хилла и индукционные переходы флуоресценции, можно сделать вывод, что физиологически активные гумусовые вещества затрагивают перенос электронов в электронтранспортной цепи органелл.

Приведенные данные по влиянию облучения и замачивания семян в 0,005%-ном р-ре гуматов натрия на фотосинтетические процессы коррелируют с данными по урожайности в вегетационном опыте (табл. 5).

Таблица 5

Влияние облучения и предпосевного замачивания семян в 0,005%-ном растворе гуматов натрия на урожай

Среда замачивания семян	Средний вес семян, в г на сосуд		Среднее количество			
	0 кр	5 кр	бобов на растение		семян на 1 боб	
			0 кр	5 кр	0 кр	5 кр
H_2O	4,9	2,5	2,2	1,6	3,0	2,1
0,005%-ный р-р гуматов натрия	7,1	3,8	2,9	2,0	3,4	2,7

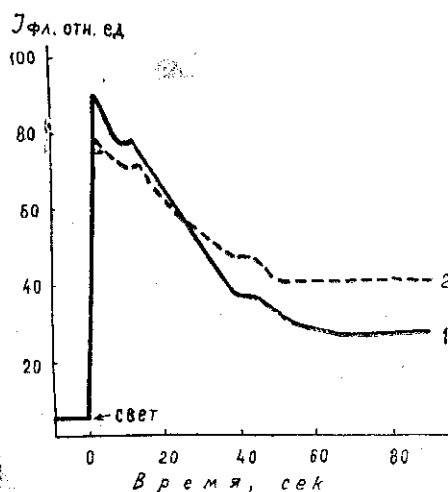


Рис. 4. Характер индукционных переходов флуоресценции листьев (семена замачивались в 0,005%-ном растворе гуматов натрия): 1 — семена не облучались; 2 — семена облучались дозой 5 кр.

Выводы

1. Замачивание семян в растворе с оптимальной концентрацией физиологически активных гумусовых веществ увеличивает содержание пигментов в листьях, активизирует реакцию Хилла, усиливает индукционные переходы флуоресценции листьев, повышает интенсивность фотосинтеза.

2. Предпосевное облучение семян гороха дозой 5 кр подавляет синтез пигментов, реакцию Хилла, индукционные переходы флуоресценции листьев, что в целом отрицательно сказывается на интенсивности фотосинтеза.

3. Гуматы натрия способствуют скорейшему пострадиационному восстановлению фотосинтетических процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Маслова Н. Ф., Нютин Ю. И. Оптические свойства листьев томатов, выращенных из облученных семян. «Физиология и биохимия культурных растений», 5, 4, 1973.
2. Христева Л. А. Физиологическая функция гуминовой кислоты в процессе обмена веществ высших растений. — В сб.: Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения, ч. I, Харьков, 1957.
3. Комиссаров И. Д., Климова А. А., Логинов Л. Ф. Влияние гуминовых препаратов на фотосинтез и дыхание растений. — В сб.: Гуминовые препараты, ТСХИ, Тюмень, 1971.
4. Реутов В. А., Кравченко Р. Н. Фракционирование гумусовых веществ торфа, физико-химическая характеристика фракций и физиологическая активность. — В сб.: Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения, т. IV. Днепропетровск, 1973.
5. Хит О. Фотосинтез. М., «Мир», 1972.
6. Христева Л. А. О природе действия физиологически активных гуминовых кислот и других стимуляторов роста. — В сб.: Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения, т. 3, Киев, 1968.
7. Гаевский Н. А., Гольд В. М., Григорьев Ю. С., Пузырь А. П. Выход флуоресценции хлорофилла в изолированных хлоропластах и его связь с первичными процессами превращения энергии в фотосинтезе. — В сб.: Биологическая спектрофотометрия и фитоактинометрия, Красноярск, 1973.
8. Григорьев Ю. С., Гольд В. М., Гаевский Н. А. Изучение индукционных переходов флуоресценции у различных групп растений. Физиология растений, 20, 4, 747, 1973.
9. Wishniac W. Methods for study of the Hill Reaction. Methods in enzymology v. 4, New-York, 1957.
10. West R. H., Wiskich Y. T. Biochem. J., 109, 527, 1968.
11. Whatley E., Arnon D., in: Methods in Enzymology, 6, 308, 1963.

Проблемная лаборатория по гуминовым удобрениям
Днепропетровского сельскохозяйственного института.