

УДК 477.9

Л.В. Шевцова, В.В. Валетов, М.Я. Острикова

ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ХЛОРОФИЛЛА В ХВОЕ ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТА

Изучено влияние искусственных фитогормональных регуляторов роста на фотосинтезирующий аппарат. Установлено, что наиболее эффективно действуют на фотосинтезирующий аппарат однолетних сеянцев сосны обыкновенной кинетин в концентрации 2×10^{-2} , 2×10^{-1} мг/л, картолин в концентрации 2×10^{-3} , 2×10^{-2} мг/л и сочетания ИУК 20 и кинетин 2×10^{-2} мг/л, ИУК 200 и кинетин 2×10^{-1} мг/л.

Органические соединения, образующиеся в ходе фотосинтеза, используются клетками растительного организма в качестве питательных веществ. Важнейшим этапом питания органическими соединениями на клеточном уровне является процесс дыхания - окислительный их распад, сопровождающийся образованием химически активных метаболитов и освобождением энергии, которые используются для жизнедеятельности [1-5]. Установлено, что аскорбиновая кислота, выступающая в качестве донора электронов и обладающая ярко выраженными редуцирующими свойствами, является существенным фактором дыхания [6-10]. В связи с этим очень важно изучить динамику аскорбиновой кислоты в фотосинтезирующем аппарате и влияние природных и техногенных факторов, а также изменения во внутренней среде клетки под воздействием последних, что и явилось целью данной работы.

В качестве объекта исследования выбрано хвойное вечнозеленое растение - сосна обыкновенная (*Pinus silvestris* L.), которая относится к классу шишконосных (*Coniferopsida*), порядку *Coniferales*, семейству сосновых (*Pinus*) и является как основной хозяйственно-ценной, так и одной из основных лесообразующих пород в республике Беларусь.

Опыт был поставлен на однолетних сеянцах сосны обыкновенной (микрополевого опыта), заложённых в Корневском опытном лесхозе Института леса Национальной Академии Наук Беларуси.

Почвенные характеристики лесокультурной площади и микрополевых площадок следующие: почвы песчаные, $pH_{КС1}$, содержание гумуса 1,06 %, обменного калия 2,00 мг $K_2O/100$ г почвы и фосфора 9,98 МГ $P_2O_5/100$ г почвы, легкогидролизуемого азота 2,80 МГ/100 г почвы. Схема размещения сосны в культуре - $2,5 \times 1,0$ м. Посадка осуществлялась в борозду. Площадки для микрополевого опыта представляли собой делянки размером $2,0 \times 1,7$ м. Схема размещения однолетних сеянцев на делянке 20×25 см по 49 на одной. Схема опыта приведена в табл. 1.

Таблица 1

Схема микрополевого опыта

№г/п	Вариант	Концентрация препарата, мг/л
1	Контроль (вода)	
2	Картолин	2×10^{-4} , 2×10^{-3} , 2×10^{-2} , 2×10^{-1} , 2×10^0 , 2×10^1
3	Кинетин	2×10^{-4} , 2×10^{-3} , 2×10^{-2} , 2×10^{-1} , 2×10^0
4	ИУК	20, 200
5	ИУК 20+ картолин	2×10^{-2} , 2×10^{-1} , 2×10^0
6	ИУК 200+ картолин	2×10^{-2} , 2×10^{-1} , 2×10^0 , 200, 2×10^0

В ходе исследования использовались фитогормональные препараты, у которых четко прослеживается положительный физиологический эффект (стимулирование роста, повышение содержания хлорофилла в хвое, повышение устойчивости к неблагоприятным факторам среды, повышение приживаемости, наличие радиоротекторных свойств и т.п.), с одной стороны, и которые легко доступны для хозяйственного использования, с другой стороны, т. е. налажено их промышленное производство, они имеют относительно невысокую стоимость и низкие эффективные концентрации, а растворы их достаточно устойчивы. С этих позиций наше внимание привлекли индолилуксусная кислота - ИУК (в исследованиях использована ее калиевая соль - гетероауксин) и кинетин.

В период интенсивного вегетативного роста (май-июнь) проведена двухкратная с интервалом в 7 дней обработка растений водными растворами регуляторов роста опрыскиванием с использованием поверхностноактивных веществ для лучшего смачивания хвои. Для нанесения растворов на растение использовали ручной опрыскиватель типа ОГ. В качестве рабочих концентраций использовали по одной из эффективных концентраций, установленных Шевцовой Л. В. [11]. Расход раствора составил 0.5 л на делянку. Каждый обработанный сеянец при анализе полученных данных принят нами за отдельную повторность опыта, при

этом повторность вариантов обработки в опыте 3-кратная. Обработку производили в дни, когда выпадение осадков не предполагалось, во избежание смывания действующих веществ с хвои.

Аскорбиновая кислота определялась иодометрическим методом, основанным на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать иодид калия до свободного иода. Титрование проводилось с 0,001% раствором иодата калия до появления бледно-синего окрашивания.

Хлорофиллы определяли в спиртовых вытяжках, используя двухволновый метод спектрофотометрирования. Концентрацию пигментов рассчитывали по формулам предложенным Винтерманом и Мотесом:

$$C a \text{ (мг/л)} = 13,70 D_{665} - 5,76 D_{649};$$

$$C b \text{ (мг/л)} = 25,80 D_{649} - 7,60 D_{665};$$

$$C a+b \text{ (мг/л)} = 6,10 D_{665} + 20,04 D_{649}.$$

Для анализа полученных данных использовали методы математической статистики (дисперсионный и корреляционный анализы). Определяли следующие показатели: среднее значение ряда вариантов, среднее арифметическое, отклонение от среднего значения для каждого варианта, дисперсия, стандартное отклонение, доверительный интервал, относительная ошибка измерения, критерий Стьюдента, критерий Фишера, коэффициент корреляции. Методика проведения расчетов общепринятая.

Известно, что аскорбиновая кислота участвует в процессах усвоения углекислоты зелеными растениями. Введение в листья аскорбиновой кислоты повышает интенсивность фотосинтеза. Низкие концентрации аскорбиновой кислоты повышают ассимиляцию углекислоты, а более высокие - снижают этот процесс [12]. Аскорбиновая кислота играет важную роль в фотохимическом восстановлении хлорофилла. При этом происходит необратимое фотохимическое восстановление карбонильной группы хлорофилла b. Активные фотопродукты играют важную роль и при сенсбилизированных реакциях в ростовых системах и в фотосинтезе [13]. Кроме непосредственного участия аскорбиновой кислоты в процессах фотосинтеза, этот витамин может положительно действовать на ассимиляцию углекислоты путем предохранения хлорофилла от окисления. т.е. витамин С защищает хлорофилл от окисления в присутствии гликолевой кислоты в темноте, окисляясь кислородом перекисей. Однако аскорбиновая кислота не регенирует окисленный хлорофилл.

Есть данные о том, что существует прямая связь между концентрациями аскорбиновой кислоты и хлорофилла в листе. Витамин С накапливается в гидрофильной строме, а не в липофильных хлорофильных гранулах, причем содержание его в хлоропласте по весу приблизительно равно содержанию хлорофилла [14].

В табл. 2 представлены полученные данные по взаимосвязи хлорофилла и аскорбиновой кислоты в хвое однолетних сеянцев сосны, обработанных регуляторами роста после их укоренения на делянках. Они свидетельствуют о положительном действии регуляторов роста в оптимальных концентрациях на фотосинтезирующий аппарат сеянцев, перенесших стрессовое состояние после посадки.

Таблица 2

Содержание суммарного хлорофилла и аскорбиновой кислоты в хвое однолетних сеянцев сосны, обработанных регуляторами роста

Варианты опыта	Хлорофилл, мг/100 г		Аскорбиновая кислота, мг/100 г	
	M±m	T	M±m	T
Контроль	107,1±2,3	-	56,5±3,5	-
Картолин (мг/л)				
2 × 10 ⁻⁴	118,8±1,8	6,56	51,6±4,2	-1,96
2 × 10 ⁻³	130,0±2,7	13,68	48,9±2,8	-3,10
2 × 10 ⁻²	126,3±3,0	10,63	40,4±4,0	-7,42
2 × 10 ⁻¹	118,8±2,4	7,75	41,3±3,7	-4,69
2	106,3±3,3	-0,61	42,6±3,6	-4,44
20	75,0±2,0	-17,97	40,8±4,3	-6,41
Кинетин (мг/л)				
2 × 10 ⁻⁴	108,8±3,9	0,84	58,8±3,0	1,24
2 × 10 ⁻³	119,8±1,7	1,71	53,0±4,6	-1,40
2 × 10 ⁻²	136,3±2,8	12,54	38,1±2,9	-9,78
2 × 10 ⁻¹	116,3±2,3	3,75	35,9±4,8	-8,39
2 × 10 ⁰	110,0±3,5	1,08	46,0±4,3	-4,65

Окончание табл. 2

Варианты опыта	Хлорофилл, мг/100 г		Аскорбиновая кислота, мг/100 г	
	M±m	T	M±m	T
ИУК (мг/л)				
20	112,5±2,7	2,22	53,4±3,6	-1,52
200	108,8±2,9	1,37	32,3±4,0	-11,05
ИУК+Кинетин (мг/л)				
20+2 × 10 ⁻²	130,0±3,6	9,46	58,9±3,6	1,07
20+2 × 10 ⁻¹	122,5±3,2	6,24	63,6±4,0	3,03
20+2 × 10 ⁰	116,0±2,9	3,72	53,0±3,0	-1,81
200+2 × 10 ⁻²	126,0±2,4	7,88	57,7±5,1	0,48
200+2 × 10 ⁻¹	140,0±2,0	20,60	40,8±2,7	-8,75
200+2 × 10 ⁰	127,5±4,0	9,58	52,5±3,9	-1,78

В результате обработки сеянцев сосны фитогормональными регуляторами роста произошло снижение содержания аскорбиновой кислоты. Наиболее сильное влияние оказала ИУК концентрации 200 мг/л, которая снизила содержание аскорбиновой кислоты на 43 %. В варианте опыта с картолином в концентрации 2×10^{-2} мг/л и 2×10^{-1} мг/л наблюдалось снижение содержания аскорбиновой кислоты на 29 %. Промежуточные концентрации давали меньший эффект.

Обработка сеянцев кинетином концентрации 2×10^{-2} - 2×10^{-1} мг/л снизила содержание аскорбиновой кислоты на 32-36%, что свидетельствует о его более сильном действии, чем картолин.

В результате 4-х-кратной обработки сеянцев сосны опрыскиванием кинетином концентрации 2×10^{-4} -2 мг/л установлено статистически достоверное повышение содержания хлорофилла в интервале концентрации 2×10^{-3} - 2×10^{-1} мг/л относительно контроля на 27 %. Эти данные свидетельствуют о влиянии регуляторов роста на фото-синтезирующий аппарат.

Концентрация картолина 20 мг/л оказалась токсичной для фотосинтезирующего аппарата однолетних сеянцев сосны. Концентрация картолина 2 мг/л была нейтральной по действию на синтез хлорофилла.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что влияние картолина на содержание хлорофилла в хвое однолетних саженцев имеет прямую зависимость от концентрации.

Влияние аскорбиновой кислоты на содержание хлорофилла в хвое сеянцев, обработанных фитогормональными регуляторами роста кинетином и индолилуксусной кислотой носит обратную зависимость. То есть со снижением содержания аскорбиновой кислоты увеличивается содержание хлорофилла. Это утверждение подтверждает значение коэффициентов корреляции -0,28 и -0,38. Коэффициенты корреляции не равны нулю - это значит, что вариации обоих признаков связаны, то есть с изменением одного признака меняется и другой.

Корреляция между признаками слабая, так как коэффициенты корреляции меньше 0,5. Степень «связанности» в вариации и хлорофилла и аскорбиновая кислоты точно измеряется квадратом коэффициента корреляции. Это при обработке кинетином $r=-0,28$ 0,078 % вариации одного признака объясняется вариацией другого признака, по остальной же части вариации соотношения между признаками чисто случайное. При опрыскивании кинетином $r=-0,38$ около 0,14% изменчивости объясняется таким же образом.

В результате обработки сеянцев картолином наблюдается положительная корреляция при коэффициенте корреляции 0,05.

На основании полученных данных эффективными по действию на фотосинтезирующий аппарат однолетних сеянцев сосны обыкновенной можно считать кинетин в концентрации 2×10^{-2} , 2×10^{-1} мг/л, картолин в концентрации 2×10^{-3} , 2×10^{-2} мг/л и сочетания ИУК 20 и кинетин 2×10^{-2} мг/л, ИУК 200 и кинетин 2×10^{-1} мг/л.

Литература

1. Артамонов В.И. Физиология растений. – М.: Наука, 1966. – 568 с.
2. Колесников П.А. Биохимия дыхания зеленых клеток / АН СССР. Ин-т биохимии – М., 1953. – 243 с.

3. Куваева В.Б. Физиологическая роль витаминов С, Е, К в организме животных. - М.: Лесн. пром-сть, 1979. - 95 с.
4. Матуис И.И. Вопросы витаминологии. - М.: Высш. шк., 1972. - 326 с.
5. Несков Ш.М. Витаминология. - М.: Высш. шк., 1983 - 290 с.
6. Овчаров К.Е. Витамины в жизни растений. - М.: Изд-во АН СССР, 1955. - 345 с.
7. Овчаров К.Е. Роль витаминов в жизни растений. - М.: Изд-во АН СССР, 1958. - 346 с.
8. Овчаров К.Е. Витамины. - М.: Знание, 1962. - 298 с.
9. Овчаров К.Е. Тайны зеленого растения. - М.: Наука, 1973. - 179 с.
10. Рубин Б.А., Ладыгина М.Е. Энзимология и биология дыхания растений. - М.: Высш. шк., 1966. - 288 с.
11. Шевцова Л.В. Биорегуляция ростовых процессов семян сосны обыкновенной картолином: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Гомель, 1992 - 18 с.
12. Мецлер Д.Э. Биохимия. Химические реакции в живой клетке. - М.: Наука, 1967.
13. Пименов М.Г. Витаминология. - М.: Высш. шк., 1981. - 503 с.
14. Полевой В.В. Физиология растений. - М.: Высш. шк., 1989. - 464 с.

Summary

The article is devoted to the influence of growth regulators on the contents of vitamin C and chlorophyll in conifer (Pinus silvestris L. – The Latin name).