

Н. В. БАЖАНОВА, А. Г. ГЕВОРКЯН, Д. А. ОГАНЕСЯН

НАКОПЛЕНИЕ ПИГМЕНТОВ И СОСТОЯНИЕ ПРОЧНОСТИ СВЯЗИ ХЛОРОФИЛЛА С ЛИПОПРОТЕИДОМ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ ГИДРОПОНИКИ

Работами ряда авторов [1—6] показано, что растения в условиях гидропоники отличаются эффективными физиолого-биохимическими показателями и высокой производительностью.

Изменения, происходящие в растениях, в связи с их приспособлением к новым условиям питательной среды, затрагивают и пигментную систему. В одной из наших работ [3] отмечено, что в условиях гидропоники и почвы формируются неодинаковые типы хлорофилло-белково-липидного комплекса, отличающиеся по прочности связи хлорофилла с носителем, а также по количественному соотношению зеленых и желтых пигментов.

У гидропонических растений отмечен также и более интенсивный процесс фотосинтеза. Процессы дыхания и транспирации, связанные с расходом энергии, протекают у них относительно слабее [3].

Проблема исследования хлорофилла и каротиноидов, их биохимических и биофизических свойств весьма сложна и многогранна. Экспериментальные исследования этой проблемы, начатые еще К. А. Тимирязевым [7], продолжают в настоящее время широко и углубленно.

Однако вопрос сравнительного изучения хлорофилло-белково-липидного комплекса и его пигментного состава у растений, выращиваемых в условиях гидропоники и почвы, в литературе почти не освещен.

Объектами нашего исследования были выбраны морковь сорта «Нантская» (двухлетние данные) и огурцы «Котайкские». Те и другие растения культивировались в условиях открытой гравийной гидропоники и почвы.

Контрольный почвенный участок был хорошо обработан и удобрен. Образцы для анализов нам были любезно предоставлены Л. Н. Микаелян.

Из взятых нами растений морковь в гидропонических условиях изучена более основательно [1]. Что касается второй культуры, то ее развитие в гидропонических условиях исследовано недостаточно, особенно при летней высадке рассады. В нашем опыте рассада огурцов в фазе IV—V настоящих листьев была посажена 16 июля. Опытные растения зацвели 30 августа, т. е. через 45 дней после высадки в грунт; они имели хорошо развитый листовой аппарат.

Молодые, развившиеся листья собирали с 10—15 растений, освобождали от центральной жилки, измельчали, перемешивали и получали усредненные пробы. Из каждого варианта опыта брали по две навески (2 г), из вытяжек которых наносили по три хроматограммы. Измельчение растительного материала, выделение и разделение пигментов производили по методу Д. И. Сапожникова с сотр. [8].

Количество основных пяти пигментов (хлорофиллов «а» и «б», каротина, лютеина и виолаксантина) определяли на фотокалориметре ФЭК-М с применением пересчетных коэффициентов, полученных для каждого пигмента на основании соответствующих калибровочных кривых. Желтые пигменты определяли за синим светофильтром, зеленые — за красным. Представленные цифры являются средними, статистически обработанными данными из 6—9 повторений.

Методы определения прочности хлорофилло-белково-липидного комплекса основаны на неизвлекаемости хлорофилла из листа неполярными растворителями. Для большей достоверности полученных результатов при определении прочности связи хлорофилла с белковым компонентом мы пользовались двумя методами. В первом случае листья подвергались термической обработке в фосфатном буфере (рН—10) при 80°C в течение одной минуты. После термической обработки непрочно связанную часть хлорофилла извлекали петролейным эфиром до бесцветной капли, затем более прочно связанную фракцию с белком доизвлекали спиртом с ацетоном. Поскольку нас интересовал вопрос, какова прочность связи с носителем каждого зеленого пигмента в отдельности, полученные эпи- и гипофазные вытяжки подвергали хроматографическому разделению на хлорофиллы «а» и «б».

Во втором случае мы пользовались методикой, предложенной Д. И. Сапожниковым и С. А. Черноморским [9], позволяющей извлекать хлорофиллы из свежих листьев смесью полярных и неполярных растворителей в различных соотношениях. Рекомендуемые ими концентрации растворов (от 0,4 до 1,6% сп/п. э.) для наших целей не подошли, поэтому после проверки нескольких соотношений мы остановились на однопроцентном и шестипроцентном растворах этанола в петролейном эфире. За относительный показатель состояния хлорофилло-белково-липидного комплекса и его стабильности принято отношение между легко- и трудноизвлекаемой фракциями в процентах.

Содержание азота, фосфора, калия в листьях растений определяли двумя методами с целью их сравнения: методом Пиневица в модификации Гаспарян и методом Гинсбург и Щегловой [10, 11].

В первой серии опытов исследовали динамику количественного изменения пластидных пигментов в листьях гидропонических и почвенных растений; во второй — прочность связи хлорофиллов «а» и «б» с белково-липидным комплексом и, в третьей — количественное содержание азота, фосфора и калия в листьях этих же растений.

На первом рисунке отражены данные накопления хлорофиллов «а» и «б» (на рис. 1, сверху), каротина, лютеина и виолаксантина (внизу) по фазам развития в листьях моркови; на рис. 2 аналогичное расположение кривых по накоплению этих пигментов в листьях огурцов.

Рассматривая динамику накопления пигментов, прежде всего, можно констатировать различный характер их изменений в течение вегетационного периода растений (как в условиях гидропоники, так и на почве).

Так, например, динамика накопления хлорофиллов в листьях моркови (рис. 1) выражена одновыпуклой кривой, пик которой совпадает с фазой утолщения корнеплодов. До этого же момента идет усиленное накопление и каротиноидов.

В листьях огурцов (рис. 2) к моменту цветения (5/IX) также отмечено повышенное содержание всех пигментов.

Усиленное накопление пигментов в листьях в репродуктивную фазу развития отмечалось многими авторами; некоторые из них [12—

15] высказали предположение, что хлорофилл как «зеленый белок» в период органообразования может служить запасным веществом и в какой-то степени участвовать во вторичных реакциях метаболизма.

Если рассматривать динамику содержания пигментов у растений, возделываемых в условиях гидропоники и почвы, то обнаруживается разный характер их накопления.

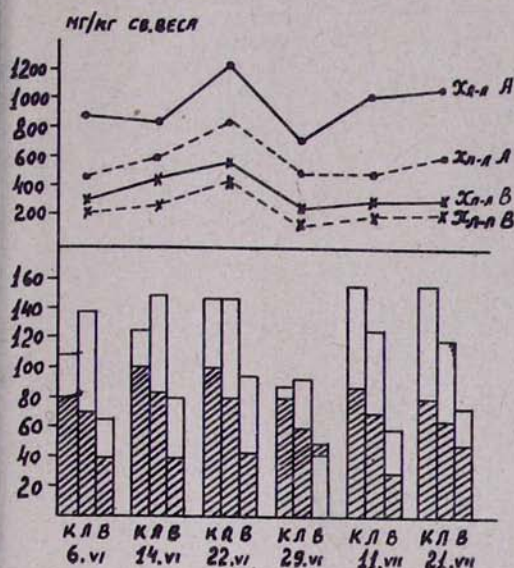


Рис. 1. Динамика накопления пигментов пластид в листьях растений моркови по срокам вегетации.

Наверху—количество хлорофиллов «а» и «б». Сплошная линия—в листьях гидропонических растений. Пунктирная—в листьях почвенных растений. Внизу—количество каротина (К), лютеина (Л) и виолаксантина (В). Весь столбик—в листьях гидропонических растений; заштрихованная часть столбика—в листьях почвенных растений.

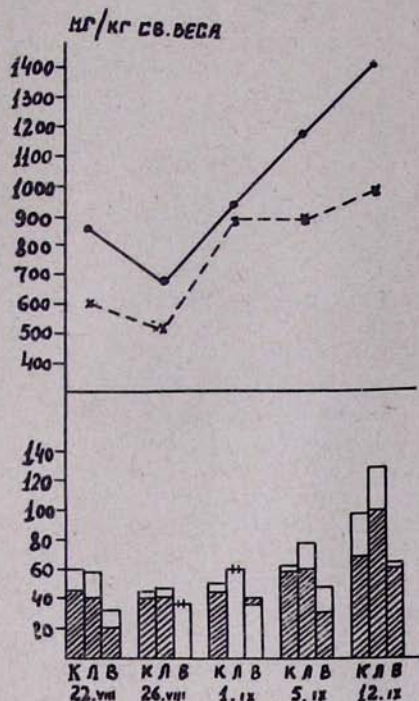


Рис. 2. Динамика накопления пигментов пластид в листьях растений огурцов в течение вегетации.

Вверху—суммарное количество хлорофиллов «а» и «б»; сплошная линия—в листьях гидропонических растений, пунктирная линия—в листьях почвенных растений. Внизу количество каротина (К), лютеина (Л) и виолаксантина (В). Весь столбик—в листьях гидропонических растений, только заштрихованные—в листьях почвенных растений.

Сравнивая накопление хлорофиллов и каротиноидов (рис. 1 и 2) у гидропонических и почвенных растений, можно отметить значительное их увеличение в листьях первых растений.

Результаты этих опытов показывают, что усиленное накопление пигментов в листьях, более интенсивный рост надземной массы (табл. 1), а также урожай корнеплодов у гидропонических растений являются сопряженными явлениями.

Вторая серия опытов была посвящена изучению прочности связи каждого хлорофилла в отдельности с липопротеидным комплексом.

Таблица 1

Высота надземной массы растений моркови в момент взятия проб (в см)

Дата измерения растений	Гидропонических	Почвенных
6/VI 1966 г.	40	18
14/VI	42	21
22/VI	53	23
29/VI	55	24
11/VII	65	26
21/VII	60	25

Как известно, в хлоропласте прочность связи хлорофилла с белковым компонентом меняется в зависимости от возраста самого растения и пластидного белка [16]; эта связь непостоянна и неодинакова у представителей различных систематических групп растений [17]; она увеличивается под влиянием различных макро- и микроэлементов [18—20], под влиянием почвенного засоления [21] и других факторов внешней среды [22].

В наших опытах, при изучении прочности связи хлорофилла с белково-липидным комплексом, довольно четко обнаруживается преимущество гравийной гидропоники.

В листьях почвенных растений (табл. 2) в сравнении с гидропоническими содержится гораздо больше хлорофилла, легко извлекаемого петролевым эфиром, т. е. непрочного связанного с белком. Прочность связи хлорофиллов с белковым компонентом в хлоропластах изменяется в онтогенезе тех и других растений, при этом прочность связи нарушается и уменьшается с их возрастом. Здесь же был отмечен факт неодинаковой извлекаемости хлорофиллов «а» и «б» из листьев; обнаружена менее прочная связь хлорофилла «а» с липопротеидами.

Таблица 2

Процент извлекаемости хлорофилла «а» и «б» петролевым эфиром и спиртом/ацетоном после термической обработки (при 80°C) листьев моркови (данные 1967 г.)

Дата анализа	Гидропоника				Почва			
	хлорофилл „а“		хлорофилл „б“		хлорофилл „а“		хлорофилл „б“	
	п/э	сп/ац	п/э	сп/ац	п/э	сп/ац	п/э	сп/ац
6/VI	28	72	10	90	60	40	35	65
14/VI	23	77	5	95	40	60	30	70
22/VI	34	66	3	97	45	55	25	75
29/VI	43	57	15	85	40	60	25	75
11/VII	47	53	30	70	65	35	35	65
21/VII	51	49	40	60	65	35	55	45

Т. А. Баврина [23, 24], при изучении фотопериодизма растений, отметила тот же факт и высказала предположение, что хлорофилл «б» связан с какими-то иными белками через альдегидную группу, что и обуславливает его большую прочность связи с липопротеидами.

Наши данные по связи хлорофилла «б» с белком находят подтверждение также в работах А. А. Шлыка с сотр. [25, 26].

Интересные результаты приводит О. П. Осипова [27, 28] по влиянию хлорамфеникола на содержание хлорофиллов «а» и «б»; оказалось,

что общая убыль хлорофиллов происходила за счет преимущественного уменьшения хлорофилла «а».

Полученные данные на листьях моркови показывают не только более прочную связь хлорофиллов «а» и «б» с белково-липидным комплексом в пластидах растений в условиях гидропоники, но и общую тенденцию бóльшей извлекаемости хлорофилла «а» петролейным эфиром, из листьев как почвенных, так и гидропонических растений.

При использовании смеси спирта с петролейным эфиром фракционное извлечение хлорофиллов оказалось также различным для гидропонических и почвенных растений.

На рис. 3 изображены кривые, дающие представление об извлекаемости хлорофиллов «а» и «б» смесью указанных растворителей из листьев огурцов.

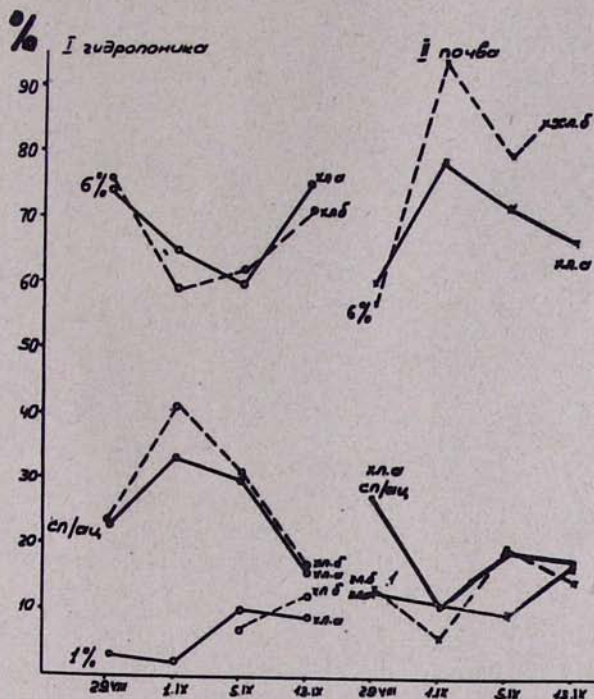


Рис. 3. Процент извлекаемости хлорофиллов «а» и «б» различными концентрациями спирта в петролейном эфире (1% и 6%), а также спиртом с ацетоном из листьев, выращенных в условиях гидропоники (I) и почвы (II).

Сплошная линия—хлорофилл «а». Пунктирная—хлорофилл «б».

В первые сроки вегетации у гидропонических растений однопроцентным раствором этанола в петролейном эфире извлекалась лишь незначительная часть хлорофилла «а» и совершенно не извлекался хлорофилл «б», в то время как из листьев растений, произраставших в почве, хлорофиллы «а» и «б» извлекались одновременно.

Шестипроцентным раствором спирта в петролейном эфире из тех и других растений извлекалась большая часть хлорофиллов, причем из почвенных растений, помимо значительного количества хлорофилла «а», экстрагировался также весь хлорофилл «б».

Спиртом с ацетоном доизвлекали оставшуюся более прочно связанную часть зеленых пигментов. Количество этой фракции пигментов в листьях гидропонических растений было намного выше, чем в листьях обычных растений.

Таким образом хлорофиллы «а» и «б» неравномерно извлекаются из листьев растений, независимо от способа их выращивания. Однако непрочно связанная форма этих пигментов преобладает в листьях почвенных растений. Кроме того при фракционном извлечении зеленых пигментов различными концентрациями спирта в п/э отмечена зависимость его от степени прочности связи хлорофиллов с носителем, что косвенно подтверждает данные А. А. Красновского [29], А. А. Шлыка [30] о разных формах хлорофиллов «а» и «б», различном характере их связи с белковым компонентом и их разных функциях в процессе фотосинтеза.

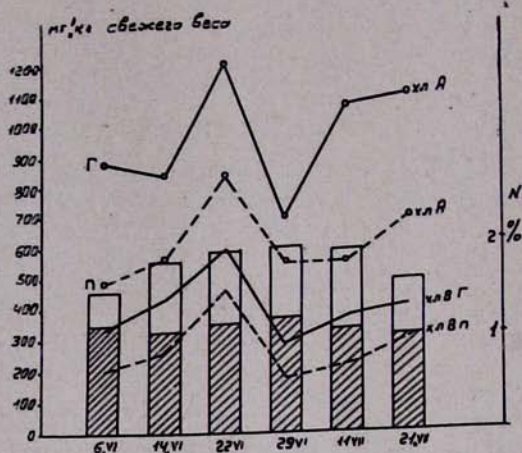


Рис. 4. Содержание хлорофиллов «а» и «б» и общего азота в листьях моркови.

Столбиками обозначено содержание общего азота в процентах (справа). Весь столбик—в листьях гидропонических растений. Только заштрихованная часть—в листьях почвенных растений. Кривые—динамика накопления хлорофиллов «а» и «б» (мг/кг св. веса листьев—слева). Сплошная линия—в листьях гидропонических растений. Пунктирная линия—в листьях почвенных растений.

Таблица 3
Накопление фосфора и калия в листьях растений в течение их развития
(в % от абсолютно-сухого веса)

Варианты опыта	Даты анализа											
	6/VI	14/VI	22/VI	29/VI	11/VII	21/VII	6/VI	14/VI	22/VI	29/VI	11/VII	21/VII
	Фосфор (P_2O_5)						Калий (K_2O)					
Гидропоника	1,35	1,25	1,05	1,12	0,80	0,85	3,96	4,44	3,78	3,27	3,21	3,0
Почва	0,85	1,25	1,10	0,85	0,95	0,92	3,93	3,99	3,42	3,99	3,46	3,0

Целью третьей серии опытов было сопоставление содержания пигментов с накоплением азота, фосфора и калия в листьях растений. Была обнаружена зависимость в содержании хлорофиллов и азота (рис. 4); в листьях гидропонических растений, при повышенном содержании хлорофиллов «а» и «б», отмечено и большое количество азота. Возможно, одной из причин пониженного синтеза хлорофилла в листьях почвенных растений является недостаточное содержание в них азота.

Какой-либо закономерности в накоплении фосфора и калия в листьях растений и связи с количеством хлорофилла обнаружить не удалось (табл. 3).

З а к л ю ч е н и е

Показано, что существует корреляция между содержанием пигментов, ростом и развитием растений.

В условиях гидропоники и почвы биохимические признаки растений также изменчивы, как и морфологические.

Фотосинтетический аппарат растений в гидропонических условиях отличается большим количеством зеленых и желтых пигментов, а также большей прочностью связи хлорофиллов «а» и «б» с носителем.

Для почвенных и гидропонических растений отмечена меньшая прочность связи хлорофилла «а» с липопротенидами.

Фракционная извлекаемость хлорофиллов «а» и «б» смесью полярных и неполярных растворителей для гидропонических и почвенных растений различна. Трудно извлекаемая форма зеленых пигментов преобладает в листьях гидропонических растений.

В условиях гидропоники растения лучше обеспечиваются азотом. Подтверждена взаимосвязь в накоплении общего азота и хлорофилла в листьях растений.

Ն. Վ. ԲԱԺԱՆՈՎԱ, Ա. Գ. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Զ. Ա. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

ՀԻՊՈՊՈՆԻԿԱԿԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ ԱՃԵՅՎԱԾ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՏԵՐԵՎՆԵՐՈՒՄ
ՊԻԳՄԵՆՏՆԵՐԻ ԿՈՒՏԱԿՈՒՄԸ ԵՎ ԼԻՊՈՊՐՈՏԵԻՆԵՐԻ ՀԵՏ ՔԼՈՐՈՖԻԼԻ
ԿԱՊԻ ԿԱՅՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ՎԻՃԱԿԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հետազոտվել է բույսերի տերևներում բլորոֆիլ «а»-ի, «б»-ի, կարոտինի, քսանթոֆիլի, վիտլաքսանթինի քանակական կուտակումը, բլորոֆիլ-սպիրտա-կուց-լիպոպրոտեիդ կոմպլեքսի կայունությունը և հիմնական հանքային էլեմենտների (NPK) պարունակությունը՝ կախված նրանց աճեցման պայմաններից:

Ցույց է տրված բույսերի աճեցման հիդրոպոնիկական մեթոդի առավելությունը՝ ավելի արդյունավետ ֆիզիոլոգիական ցուցանիշներով:

Նկատված է փոխադարձ կապ բույսերի տերևներում ընդհանուր ազոտի և բլորոֆիլի կուտակման միջև:

Հիդրոպոնիկական պայմաններում աճեցված բույսերը բնորոշվում են կանաչ և դեղին պիգմենտների մեծաքանակ պարունակությամբ, և սպիրտա-կուցների հետ բլորոֆիլ «а»-ի և «б»-ի ավելի սերտ կապով:

THE ACCUMULATION OF PIGMENTS IN THE LEAVES OF PLANTS GROWN UNDER OPEN-AIR HYDROPONIC CONDITIONS AND THE STATE OF STABILITY OF THE RELATION OF CHLOROPHYLLS WITH LIPOPROTEIDS

Summary

Investigations have been carried out on the quantitative accumulation of chlorophylls „a” and „b”, carotin, lutein and violaxanthin in the leaves of plants grown under open-air hydroponic conditions, as well as on the stability of the chlorophyll-protein-lipoprotein complex and the contents of the basic mineral elements (NPK).

The hydroponic method of growing plants with its effective physiological indices is proved to have an advantage over the soil one. Plants grown hydroponically are characterized by their possession of a large number of green and yellow pigments and a closer tie between chlorophyll „a” and „b” with proteins.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давтян Г. С. Исследования в области производства растений без почвы в Арм. ССР и перспективы развития гидропонии. «Сообщения Лаб. агрохимии» АН Арм. ССР № 5, 1964, стр. 60—69.
2. Давтян Г. С. Исследования в области гидропонии. «Сообщения Ин-та агрохимических проблем и гидропонии», № 7, 1967, 3—10.
3. Давтян Г. С., Бажанова Н. В., Гаспарян О. Б., Микаелян Л. Н. Некоторые физиологические показатели растений, произрастающих в условиях открытой гидропонии и почвы. «Сообщения Ин-та агрохимических проблем и гидропонии», № 7, 1967, стр. 40—46.
4. Давтян Н. Г. Некоторые анатомические особенности строения корня и стебля растений помидора, выращенных в условиях гидропонии. «Сообщения Ин-та агрохимических проблем и гидропонии», № 7, 1967, стр. 54—61.
5. Микаелян Л. Н. Сортоиспытание помидоров в условиях открытой гидропонии. «Сообщения Лаб. агрохимии», № 6, 1965, стр. 81—86.
6. Микаелян Л. Н. Выращивание помидоров в условиях открытой гидропонии. «Сообщения Ин-та агрохимических проблем и гидропонии», № 7, 1967, стр. 25—32.
7. Тимпрязев К. А. Избранные сочинения, т. I, М., 1948.
8. Сапожников Д. И. и др. Пигменты пластид зеленых растений и методика их исследования, Из-во АН СССР, 1964, стр. 120.
9. Сапожников Д. И., Черноморский С. А. Об извлекаемости хлорофилла листьев смесью полярных и неполярных растворителей, «Физиология растений», т. 7, вып. 6, 1960.
10. Гаспарян О. Б. Определение азота, фосфора, калия, кальция в растительном материале из одной навески. «Известия АН Арм. ССР» (биол. науки), т. XIV, № 2, 1961, стр. 89—92.
11. Гинзбург К. Е., Щеглова Г. М. Ускоренный метод сжигания почв и растений. Определение азота, фосфора, калия из одной навески в растениях. «Почвоведение» № 5, 1965.

12. Любименко В. Н. Материя и растение. Синтез органического вещества в растительном царстве, 1924.
13. Любименко В. Н. Фотосинтез и хемосинтез в растительном мире, 1935 г.
14. Гюббенет Е. Р. Хлорофилл-зеленый белок, «Известия Академии пед. наук РСФСР», вып. 29, 1950.
15. Гюббенет Е. Р. Растение и хлорофилл, 1951, стр. 3—211.
16. Осипова О. П. К вопросу о состоянии хлорофилла в хлоропластах «Физиология растений», т. 4, с. 1, 1957, стр. 28—32.
17. Рабинович Е. Фотосинтез, т. I, 1951.
18. Соловьева Е. А., Макарова Н. А. Влияние микроэлементов на процесс зеленения и прочность хлорофилл-белково-липидного комплекса. «Физиология растений», т. 7, в. 4, 1960, стр. 419.
19. Попов К., Бакърджиева Н. Влияние марганца, никеля и меди на увеличение прочности пигмент-белкового комплекса в листьях и изолированных хлоропластах. Докл. Болг. АН, 18, № 7, 1965, стр. 655—658.
20. Попов К., Бакърджиева Н. Изменение в содержании и состоянии пластидных пигментов при затемнении листьев пшеницы и под влиянием марганца, никеля и меди. «Изв. Ин-та физиологии растений», «Методий Попов» Болг. АН, т. 15, 1966, стр. 65—88.
21. Строганов Б. П., Иваницкая Е. Ф. Влияние почвенного засоления, на прочность связи хлорофилла с белками хлоропластов у хлопчатника. ДАН СССР, т. XCVII, № 3, 1954, стр. 437.
22. Осипова О. П. Взаимосвязь структуры и функции фотосинтетического аппарата. «Биохимия и биофизика фотосинтеза» Из-во «Наука», 1965, стр. 146—160.
23. Баврина Т. А. Фотопериодизм и изменение пигментов в листьях растений. Автор канд. диссерт. 1965, стр. 21.
24. Баврина Т. А. Влияние длины дня на хлорофилло-белковолипидный комплекс. «Физиология растений», т. 13, в. 4, 1966.
25. Шлык А. А., Прудникова И. В. Динамика экстракции хлорофилла из листьев неполярными растворителями. «Вестник АН БССР, № 3, сер. биол. наук, 1958, стр. 16—21.
26. Шлык А. А. Метаболизм хлорофилла в зеленом растении. «Наука и техника», Минск, 1965, стр. 396.
27. Осипова О. П., Николаева М. Н., Хейн Х. Я. К вопросу о действии хлорамфеникола на фотосинтетический аппарат растений. «Физиология растений», 14, в. 2, 1967, стр. 210—218.
28. Николаева М. К., Осипова О. П., Крылов Ю. В. Действие хлорамфеникола на синтез белков хлоропластов и фотосинтетическая активность листьев. ДАН СССР, биол, т. 175, № 1, 2, 3, 1967, стр. 487.
29. Красновский А. А. Фотохимия хлорофилла, состояние и превращения пигментов фотосинтезирующих организмов. V Межд. биохим. конгресс, симпозиум VI, стр. 196—204.
30. Шлык А. А. Метаболические превращения и состояние пигментного аппарата фотосинтеза. Сб.: «Метаболизм и строение фотосинтетического аппарата», Минск, 1970, стр. 3—22.