

57
А-26

Академия наук Украинской ССР

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

На правах рукописи

С. И. ЗАЙКО

**ПЕРЕДВИЖЕНИЕ И ПРЕВРАЩЕНИЯ ЖЕЛЕЗА
В ЗДОРОВЫХ И ХЛОРОЗНЫХ РАСТЕНИЯХ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Киев — 1967

Академия наук Украинской ССР

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

На правах рукописи

С. И. ЗАЙКО

**ПЕРЕДВИЖЕНИЕ И ПРЕВРАЩЕНИЯ
ЖЕЛЕЗА В ЗДОРОВЫХ
И ХЛОРОЗНЫХ РАСТЕНИЯХ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

27700

КНИЖНИЦА
ИСТИНА
1967

Киев — 1967

57
А. 26

СХ

Диссертационная работа выполнена в течение 1964—1967 гг. в Отделе биохимии фотосинтеза Института физиологии растений АН УССР.

Научный руководитель — доктор биологических наук, профессор Л. К. Островская.

Официальные оппоненты:

1. Доктор биологических наук З. М. Климовицкая.
2. Кандидат химических наук, доцент Ф. Д. Шевченко.

Ведущее предприятие — Научно-исследовательский институт садоводства, виноградарства и виноделия им. акад. Р. Р. Шредера.

Автореферат разослан « » *декабрь* 1967 г.

Защита состоится « » *январь* 1968 г. на заседании Ученого совета Института физиологии растений АН УССР. Адрес: Киев-127, Васильковская, 49.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Ученый секретарь Ю. Г. Мережинский

296682

Центральная научная
Библиотека
Академии наук Киргизской ССР

ОГЛАВЛЕНИЕ
диссертационной работы

	Стр. Стр.
Введение	1—2
Глава I. Состояние вопроса и задача исследования . . .	3—40
1. Биохимическая роль железа	3—8
2. Условия возникновения железной недостаточности в растениях	8—15
3. Основные понятия о химии комплексных соединений	15—24
4. Состояние железа в растениях и роль комплексных соединений в биологических системах	24—31
5. Механизм поглощения и передвижения железа в растениях	31—40
Глава II. Объекты и методика исследования . . .	41—57
1. Условия проведения опытов, метод отбора и подготовки растительного материала к анализу	41—43
2. Подготовка и очистка реактивов	43—44
3. Методы химических и биохимических анализов	44—47
4. Физико-химические методы анализов	47—53
а) Электрофорез	47—49
б) Хроматография на ионообменных смолах	49—53
5. Метод радиоактивных изотопов	53—57
Глава III. Передвижение железа в молодых яблоневых деревьях	58—78
А. Корневое внесение препаратов железа	59—71
Б. Некорневая подкормка препаратами радиоактивного железа	71—78
Глава IV. Формы соединений растворимого железа в препарированных побегах и листьях растений	79—98
А. Опыт с виноградом	79—83
Б. Опыт с яблоней	83—98
Глава V. Исследование природных комплексов железа в соке листьев и водных вытяжках из различных органов и тканей здорового винограда	99—133

А. Электрофоретические исследования	99—113
Б. Хроматографические исследования на ионообменных смолах	113—133
Глава VI. Исследования природных комплексов железа в водных вытяжках из тканей и сока листьев здоровой и больной яблони	
А. Электрофоретические исследования	134—142
Б. Хроматографические исследования на ионообменных смолах	142—176
Выводы	177—179
Список литературы	180—210

В последние десятилетия достигнуты большие успехи в познании роли железа в метаболизме растений. Открытие железосодержащих флавиновых дегидраз, ферредоксина, фитоферритина, изучение их роли в растительном организме, а также новые данные по биосинтезу хлорофилла — значительно расширили наше представление о биохимической роли железа.

Однако, несмотря на сравнительные успехи исследований в области участия железа во внутриклеточных процессах, мы пока очень мало знаем относительно условий поступления железа в растения, передвижения его по тканям корня и стебля, распределения и ассимиляции в листьях. Буквально считанное число работ касается состояния и биохимических превращений железа на пути от корневого волоска до клеток листовой паренхимы. Между тем познание этой стороны железного метаболизма весьма важно не только с теоретической стороны, но и для правильного подхода к лечению растений, обусловленного «железной» недостаточностью, как известковый хлороз.

Проблема излечения известкового хлороза далеко не разрешена и является в настоящее время очень актуальной. Трудность ее разрешения в значительной мере связана со слабой изученностью процессов передвижения и превращения железа в здоровых и хлорозных растениях. Вместе с тем познание закономерностей транспорта железа и отклонений, вызываемых хлорозом в этом процессе, возможно, позволило бы не только пролить свет на физиологические причины возникновения известкового хлороза, но и сделать новый вклад в развитие нормальной физиологии питания растений.

Основной целью данного исследования было выяснение состояния железа в различных тканях растений как здоровых, так и страдающих от известкового хлороза и подойти к характеристике форм растворимых соединений.

Кроме того, предметом нашего исследования являлись

особенности передвижения железа в тканях и органах ябло- ни при корневой и некорневой подкормке. Попутно ставилась задача получить новые данные о влиянии меди на скорость поступления различных препаратов железа — неорганических солей и синтетических хелатных соединений. Как, известно, медь оказывает антагонистическое действие на поступление железа в растения; однако, все данные по этому вопросу по- лучены в опытах с травянистыми растениями, в то время как отрицательное влияние имеет наибольшее значение в насаж- дениях плодовых деревьев и виноградников, обрабатываемых фунгицидами. Второй задачей, имеющей практическое зна- чение, было выяснение путей передвижения железа в виде соли и в виде хелата Fe^{59} — ДТПУ при корневом и некорне- ном способе питания яблоневых деревьев. Для выяснения этих последних вопросов мы остановились на методе радио- активных индикаторов с применением изотопа железа.

УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ОПЫТОВ

Материалом для исследования служили следующие ра- стения:

а) А) Виноградные лозы сортов «Жемчуг Сабо» и «Шасла Белая», произрастающие в совхозе «Виноградарь» под Кие- вом на черноземной почве.

б) Б) Здоровые и хлорозные яблони сорта «Штеттинская Красная» из молодого, заложенного в 1958 г., сада учебно- опытного хозяйства «Мытница» Украинской ордена Трудового Красного Знамени сельскохозяйственной академии (Киев- ская область). Почва под яблонями — карбонатный черно- зем, содержащий до 20% $CaCO_3$. В качестве объекта иссле- дования были выбраны деревья с явными проявлениями из- весткового хлороза. Контролем к ним служили внешне здо- ровые растения тех же сортов, выращиваемые в условиях того же сада.

в) В) Здоровые деревья яблонь сорта «Кальвиль Снежный» четырехлетнего возраста, выращенные в вегетационном опы- те в сосудах емкостью 32,5 кг на черноземной почве.

г) С яблонями в вегетационных сосудах был проведен опыт с использованием радиоактивного изотопа Fe^{59} . Активность препарата железа вносимого в почву на 1 сосуд составляла 280 микрокюри. При некорневой подкормке на листья одного дерева наносили 140 микрокюри.

Опыт состоял из следующих вариантов.

а) Корневое питание:

1) $Fe^{59}Cl_3$ (200 мг Fe),

2) $Fe^{59}Cl_3$ (200 мг Fe) + 250 мг Cu в виде $Cu SO_4$,

3) Fe^{59} — ДТПУ (200 мг Fe),

4) Fe^{59} — ДТПУ (200 мг Fe) + 250 мг Cu в виде Cu — ДТПУ.

Некорневая подкормка:

1) $Fe^{59}Cl_3$ (100 мг Fe),

2) Fe^{59} — ДТПУ (100 мг Fe).

Отбор образцов проводился в течение 10 дней через оп- ределенные интервалы времени. Побеги и листья отбирались отдельно с нижних и верхних ярусов кроны; побеги и ствол препарировали на проводящие ткани: кору (флоэму), ксиле- му и сердцевину. Высушенные образцы озолялись и опреде- лялась радиоактивность золы.

Каждый образец считался в двукратной повторности три раза по 15 минут. Благодаря этому, при сравнительно не- большом в ряде образцов повышении над фоном, получены достаточно достоверные результаты.

Для изучения соединений, входящих в состав растворимой фракции железа, получали сок из замороженных листьев под давлением 150 атм. в пластмассовом стакане и водную вы- тяжку из тканей однолетних побегов (флоэмы, ксилемы и сердцевины). Экстрагирование велось бидистиллированной водой в холодной камере при температуре 2—4° С.

Железо определялось по методу Jaywell a. Cunningham (1937) с 1,10-фенантролином. Коллоидальное железо в соке и вытяжках определялось по разности его содержания до и после пропускания через ультрафильтры UFS марки «Хема- пол» с размером пор 0,45 мк. Комплексы железа разделялись методом электрофореза на бумаге в аппарате марки ЭФА-1, с буфером β , β^1 — иминодипропионитрилом на формамиде. При- готовленные буфера производили по методу Wernig et al (1960). Электрофореграммы проявляли на аминокислоты 0,1% раствором нингидрина в ацетоне, органические кисло- ты — 0,05% раствором бромфенолового синего в спирте, са- хара — 0,2% раствором резорцинфталата.

Хроматографирование на ионообменных смолах Амберлит JR-120 и Дауэкс-1 проводили по методу Schmid a. Gerloff (1961). Количество хлорофилла определяли спектрофотомет- рически в 80% водноацетоновой вытяжке на СФ-4 с пересче- том по коэффициентам Mc Kinney (1941). Определение сум- мы аминокислот проводилось методом Починка и Берштейн (1960). Определение редуцирующих сахаров — микромето- дом Бьерри (Белозерский, 1951). Кальций в растениях опре- деляли методом комплексометрического титрования с по- мощью мурексиды в щелочной среде (Padhy, 1957). Опреде- ление pH солевой вытяжки растительного материала и сока листьев проводили электрометрически со стеклянным элек- тродом на pH-метре ЛП-55.

особенности передвижения железа в тканях и органах яблони при корневой и некорневой подкормке. Попутно ставилась задача получить новые данные о влиянии меди на скорость поступления различных препаратов железа — неорганических солей и синтетических хелатных соединений. Как, известно, медь оказывает антагонистическое действие на поступление железа в растения; однако, все данные по этому вопросу получены в опытах с травянистыми растениями, в то время как отрицательное влияние имеет наибольшее значение в насаждениях плодовых деревьев и виноградников, обрабатываемых фунгицидами. Второй задачей, имеющей практическое значение, было выяснение путей передвижения железа в виде соли и в виде хелата Fe^{59} — ДТПУ при корневом и некорневом способе питания яблоневых деревьев. Для выяснения этих последних вопросов мы остановились на методе радиоактивных индикаторов с применением изотопа железа.

УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ОПЫТОВ

Материалом для исследования служили следующие растения:

а) А) Виноградные лозы сортов «Жемчуг Сабо» и «Шасла Белая», произрастающие в совхозе «Виноградарь» под Киевом на черноземной почве.

б) Б) Здоровые и хлорозные яблони сорта «Штеттинская Красная» из молодого, заложенного в 1958 г., сада учебно-опытного хозяйства «Мытница» Украинской ордена Трудового Красного Знамени сельскохозяйственной академии (Киевская область). Почва под яблонями — карбонатный чернозем, содержащий до 20% $CaCO_3$. В качестве объекта исследования были выбраны деревья с явными проявлениями известкового хлороза. Контролем к ним служили внешне здоровые растения тех же сортов, выращиваемые в условиях того же сада.

в) В) Здоровые деревья яблонь сорта «Кальвиль Снежный» четырехлетнего возраста, выращенные в вегетационном опыте в сосудах емкостью 32,5 кг на черноземной почве.

г) С яблонями в вегетационных сосудах был проведен опыт с использованием радиоактивного изотопа Fe^{59} . Активность препарата железа вносимого в почву на 1 сосуд составляла 280 микроюри. При некорневой подкормке на листья одного дерева наносили 140 микроюри.

Опыт состоял из следующих вариантов.

а) Корневое питание:

1) $Fe^{59}Cl_3$ (200 мг Fe),

2) $Fe^{59}Cl_3$ (200 мг Fe) + 250 мг Cu в виде $Cu SO_4$,

3) Fe^{59} — ДТПУ (200 мг Fe).

4) Fe^{59} — ДТПУ (200 мг Fe) + 250 мг Cu в виде Cu — ДТПУ.

Некорневая подкормка:

1) $Fe^{59}Cl_3$ (100 мг Fe),

2) Fe^{59} — ДТПУ (100 мг Fe).

Отбор образцов проводился в течение 10 дней через определенные интервалы времени. Побеги и листья отбирались отдельно с нижних и верхних ярусов кроны; побеги и ствол препарировали на проводящие ткани: кору (флоэму), ксилему и сердцевину. Высушенные образцы озолажались и определялась радиоактивность золы.

Каждый образец считался в двукратной повторности три раза по 15 минут. Благодаря этому, при сравнительно небольшом в ряде образцов повышении над фоном, получены достаточно достоверные результаты.

Для изучения соединений, входящих в состав растворимой фракции железа, получали сок из замороженных листьев под давлением 150 атм. в пластмассовом стакане и водную вытяжку из тканей однолетних побегов (флоэмы, ксилемы и сердцевины). Экстрагирование велось бидистиллированной водой в холодной камере при температуре 2—4°С.

Железо определялось по методу Jaywell a. Cunningham (1937) с 1,10-фенантролином. Коллоидальное железо в соке и вытяжках определялось по разности его содержания до и после пропускания через ультрафильтры UFS марки «Хемал» с размером пор 0,45 мк. Комплексы железа разделялись методом электрофореза на бумаге в аппарате марки ЭФА-1, с буфером β, β' — иминодипропионитрилом на формамиде. Приготовленные буфера производили по методу Werum et al (1960). Электрофореграммы проявляли на аминокислоты 0,1% раствором нингидрина в ацетоне, органические кислоты — 0,05% раствором бромфенолового синего в спирте, сахара — 0,2% раствором резорцинфталата.

Хроматографирование на ионообменных смолах Амберлит JR-120 и Дауэкс-1 проводили по методу Schmid a. Gerloff (1961). Количество хлорофилла определяли спектрофотометрически в 80% водноацетоновой вытяжке на СФ-4 с пересчетом по коэффициентам Mc Kinney (1941). Определение суммы аминокислот проводилось методом Починка и Берштейн (1960). Определение редуцирующих сахаров — микрометодом Бьерри (Белозерский, 1951). Кальций в растениях определяли методом комплексометрического титрования с помощью мурексида в щелочной среде (Padhy, 1957). Определение pH солевой вытяжки растительного материала и сока листьев проводили электрометрически со стеклянным электродом на pH-метре ЛП-55.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Передвижение различных препаратов радиоактивного железа при корневой и некорневой подкормке яблоневых деревьев

Корневое питание Fe^{59}

На графике 1 и 2 представлены результаты анализов по поступлению различных форм Fe^{59} в листья верхней и нижней части кроны яблони. Рассмотрение кривых показывает, что изменение активности Fe^{59} в листьях верхней и нижней части кроны по вариантам опыта имеет аналогичный характер. Различия наблюдаются в количественном отношении: в листьях нижней части кроны активность выше, чем в верхних листьях. Эта закономерность присуща всем вариантам опыта. Максимальное поступление железа по всем срокам опыта наблюдается в варианте Fe^{59} — ДТПУ. Активность его за все время опыта осталась почти неизменной, достигнув своего максимума в первые же сутки после внесения, что указывает на очень быструю миграцию этой формы соединения.

Ход кривой поступления железа в форме $Fe^{59}Cl_2$ несколько иной. Максимум поступления его наступает через 2,5 суток. Сравнивая ход кривых для листьев растений первого и третьего вариантов, можно легко видеть, что поступление в них железа, а также скорость передвижения последнего внутри растения зависит от формы соединения, внесенного в почву. Железо в форме $Fe^{59}Cl_2$ быстро осажается в виде гидроокиси и основных солей. В то же время железо, внесенное в форме Fe^{59} — ДТПУ, остается в растворенном состоянии.

Добавление к раствору $Fe^{59}Cl_2$ медного купороса вызвало определенное снижение в скорости поступления и передвижения железа. Так, в варианте $Fe^{59}Cl_2$, в первые сутки активность была 40 имп/мин, а в варианте $Fe^{59}Cl_2 + CuSO_4$ та же активность была достигнута лишь через 2,5 суток (график 1). Антагонистическое действие меди проявляется и при внесении в почву меди и железа в виде внутрикомплексных соединений.

Данные проведенных нами исследований по изучению путей транслокации Fe^{59} в побегах верхней и нижней части кроны яблони также приводятся в графике 1, 2. Общим для этих графиков является то, что активность Fe^{59} как во флоэме, так и в ксилеме нижних побегов выше, чем в верхних. Другой характерной чертой для проводящих пучков побега является то, что наиболее высокая активность железа наблюдается в варианте с внесением Fe^{59} — ДТПУ, а наименьшая активность — во втором варианте ($Fe^{59}Cl_2 + CuSO_4$). Это еще раз подтверждает антагонистическое действие иона ме-

ди на поступление и передвижение железа. При этом антагонизм меди проявляется сильнее при даче железа в ионном состоянии, чем в комплексном (Fe^{59} — ДТПУ). Однако необходимо отметить, что активность Fe^{59} в четвертом варианте как во флоэме, так и в ксилеме, ниже активности в этих же тканях у растений из третьего варианта. По-видимому, причина этого заключается в частичном разрушении железного и медного комплексов. Если в варианте с Fe^{59} — ДТПУ как во флоэме, так и в ксилеме, интенсивность передвижения Fe^{59} нарастает в течение 7,5 суток и максимум его приходится на конец опыта, то в варианте с добавлением Cu — ДТПУ максимум достигается на пятые сутки, после чего отмечен спад. Что касается вариантов с внесением в почву $Fe^{59}Cl_2$ и $Fe^{59}Cl_2 + CuSO_4$, то между ними как во флоэме, так и в ксилеме побегов, наблюдаются различия в поступлении и передвижении Fe^{59} . Если при внесении $Fe^{59}Cl_2$ от первого срока к третьему идет постепенное нарастание активности Fe^{59} с максимумом на пятые сутки, то при добавлении $CuSO_4$ ход изменения активности имеет иной характер: максимум активности Fe^{59} отмечен в первые сроки с последующим снижением к концу опыта. Эта динамика изменения активности, наряду с более высокой активностью Fe^{59} по всем вариантам опыта в ксилеме по сравнению с флоэмой в течение всего опыта говорит в пользу того, что основная часть железа передвигается по ксилеме.

Таблица 1

Активность Fe^{59} (имп/мин в 1 г зола) в различных тканях ствола яблони сорта „Кальвиль Снежный“ при корневой подкормке различными формами железа (через 10 суток)

Части тканей ствола	$Fe^{59}Cl_2$	$Fe^{59}Cl_2 + CuSO_4$	Fe^{59} — ДТПУ	Fe^{59} — ДТПУ + Cu — ДТПУ
Варианты	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Флоэма	$233 \pm 6,3$	$128 \pm 6,0$	$1399 \pm 6,3$	$420 \pm 4,0$
Ксилема	$580 \pm 6,8$	$232 \pm 5,0$	$2410 \pm 6,4$	$997 \pm 6,0$

В таблице 1 представлены данные по определению активности железа в проводящих тканях ствола. Из результатов эксперимента видно, что активность Fe^{59} во флоэме всех вариантов опыта почти в два раза ниже, чем в ксилеме, что согласуется с данными, представленными на граф. 1 и 2. Наряду с этим, высокая активность Fe^{59} , наблюдающаяся в побегах уже в первые сутки после внесения радиоактивного

ФЛОЭМЕ

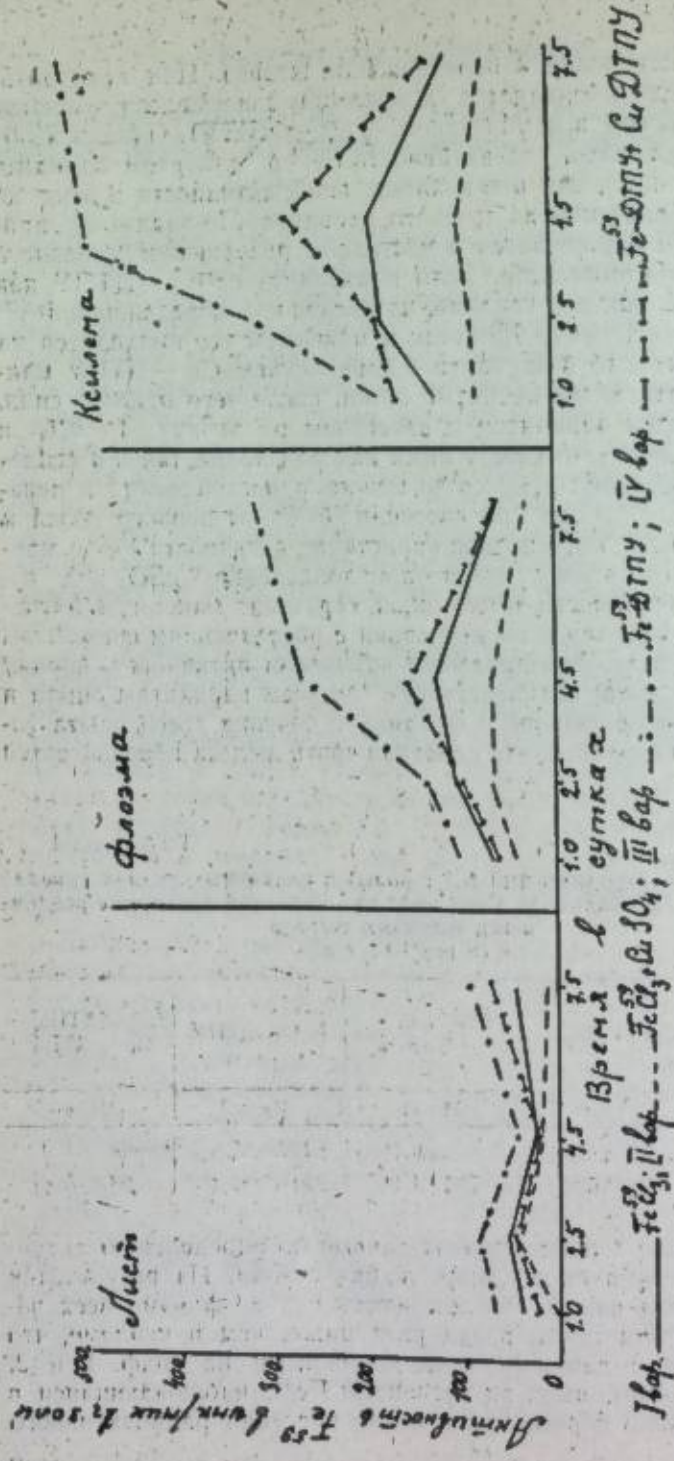


График 1.

Активность Fe^{59} в имп/мгн на 1 г зола по вариантам корневого внесения препаратов железа в органах и тканях побегов верхней части кроны яблони сорта «Кальвиль Снежный». Сентябрь 1966 г.

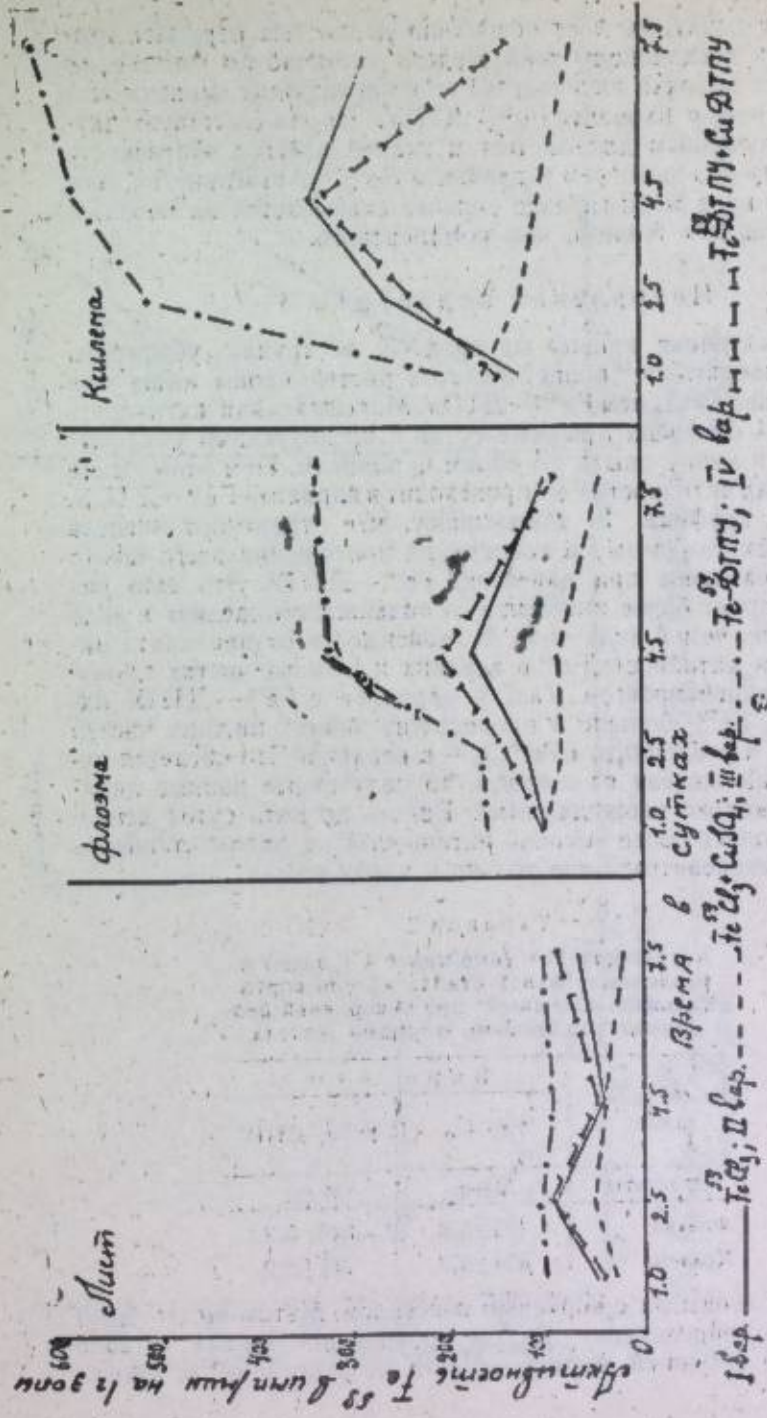


График 2.

Активность Fe^{59} в имп/мгн на 1 г зола по вариантам корневого внесения препаратов железа в органах и тканях побегов нижней части кроны яблони сорта «Кальвиль Снежный». Сентябрь 1966 г.

железа в почву, не дает основания полностью отрицать возможность восходящего тока железа частично по флоэме. *ней.*

Самая высокая активность Fe^{59} в проводящих тканях ствола отмечена в варианте $Fe^{59}Cl_2$ — ДТПУ, что соответствует данным, полученным для листьев и тканей побегов. Активность его в пять раз выше чем в варианте $Fe^{59}Cl_2$. Антагонистическое действие иона меди гораздо сильнее сказывается на передвижении ионного железа, чем комплексного.

Некорневая подкормка Fe^{59}

Рассматривая кривые на граф. 3, не трудно убедиться, что активность Fe^{59} в листьях всех частей кроны выше при нанесении $Fe^{59}Cl_2$, чем Fe^{59} — ДТПУ. Максимальная активность в листьях отмечена в первые сутки с последующим уменьшением ее к концу опыта по обоим вариантам. При этом более резкий спад активности Fe^{59} происходит в варианте Fe^{59} — ДТПУ. Кривые графика 3 показывают, что транспорт железа из листьев во флоэму и ксилему на протяжении всего опыта шел интенсивнее при нанесении Fe^{59} — ДТПУ. Это еще раз иллюстрирует более интенсивную подвижность железа в виде комплекса, чем в виде иона. В зависимости от препарата находится и активность Fe^{59} в верхних и нижних частях проводящих тканей побегов. Так, в варианте с $Fe^{59}Cl_2$ — ДТПУ активность Fe^{59} больше в проводящих тканях нижних частей побегов, а у варианта с $Fe^{59}Cl_2$ — в верхних. Что касается путей оттока железа из листьев, то полученные данные являются несколько неожиданными. Вплоть до пяти суток ксилема отличалась более высокой активностью, а радиоактивность флоэмы становится выше только к концу опыта.

Таблица 2

Активность Fe^{59} (имп/мин в 1 г зола) в различных тканях ствола яблони сорта «Кальвиль Снежный» при некорневой подкормке различными формами железа

Части ткани ствола	Варианты	
	$Fe^{59}Cl_2$	Fe^{59} — ДТПУ
Варианты	$M \pm m$	$M \pm m$
Флоэма	$185 \pm 5,8$	$348 \pm 5,2$
Ксилема	$464 \pm 5,7$	$719 \pm 6,2$

Как и в опытах с корневым внесением, в этом опыте было проведено определение Fe^{59} в проводящих тканях ствола (табл. 2). Лучшей формой железа по миграции в тканях

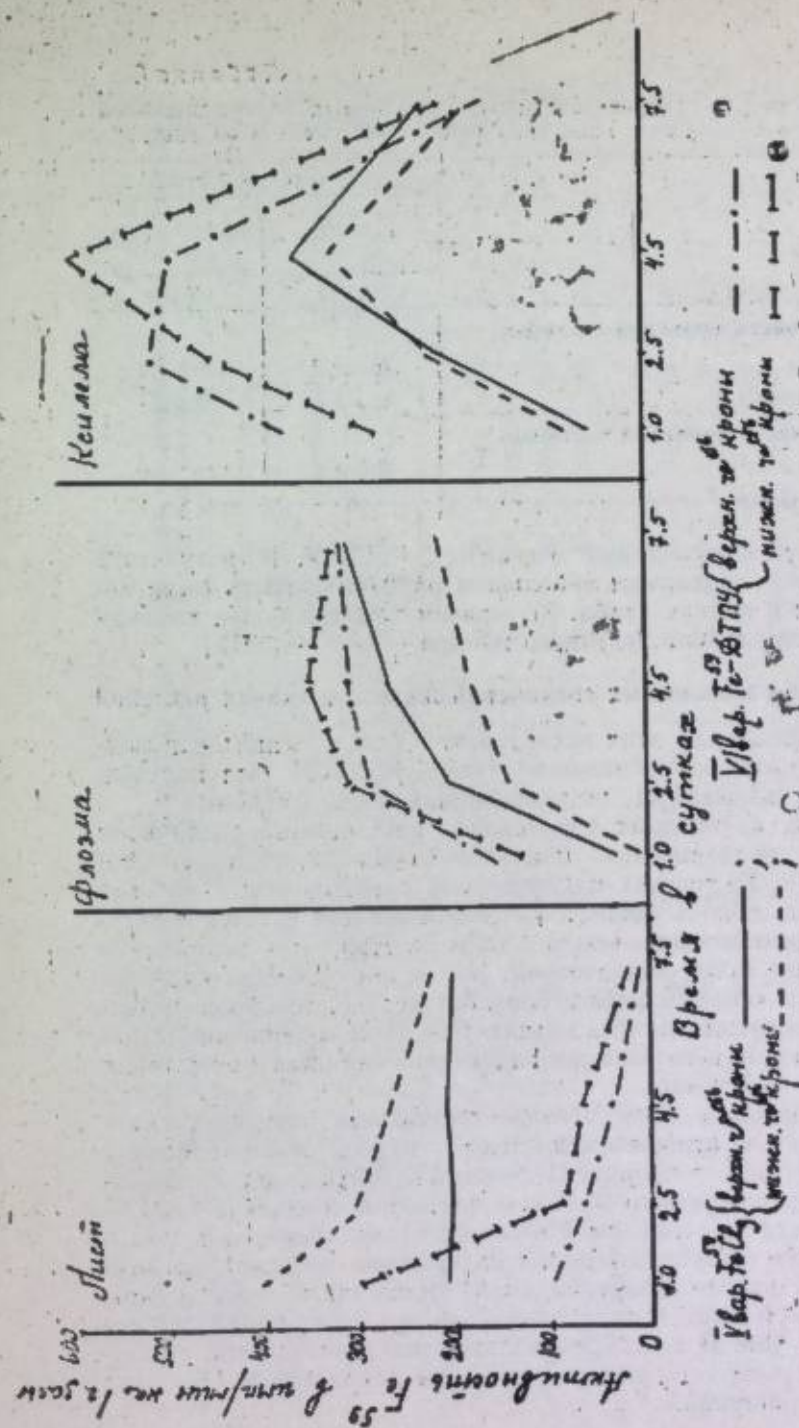


График 3
Активность Fe^{59} в имп/мин на 1 г зола по вариантам некорневой подкормки препаратом железа в органах и тканях побегов верхней и нижней части кроны яблони сорта «Кальвиль Снежный». Сентябрь 1960 г.

Таблица 3

Активность Fe^{59} (имп/мин 1 г зола) в различных частях корневой системы яблони при нанесении соединений железа на листья

	Варианты	
	$Fe^{59} Cl_3$	Fe^{59} — ДТПУ
	$M \pm m$	$M \pm m$
Верхняя часть корневой системы:		
Основные	$46 \pm 3,2$	$116 \pm 4,7$
Всасывающие	$46 \pm 3,4$	$93 \pm 5,1$
Нижняя часть корневой системы:		
Основные	$23 \pm 3,0$	$70 \pm 4,0$
Всасывающие	0	$46 \pm 3,1$

ствола оказалась также форма Fe^{59} — ДТПУ. В результате некорневой подкормки небольшая радиоактивность была получена и в корнях (табл. 3), причем заметно более высокая при использовании хелатного железа — Fe^{59} — ДТПУ.

Изучение растворимых соединений железа в тканях растений

Материал для этих исследований (сок из листьев и водные вытяжки из проводящих тканей побегов) был получен, как уже указывалось, из виноградной лозы и яблонь.

Ткани, из которых извлекались растворимые соединения железа, предварительно анализировались на общее его содержание. В листьях и сердцевине однолетних побегов хлорозных яблонь общее содержание железа в течение вегетации было меньше, чем в здоровых. При этом различия в сердцевине более значительны, чем в листьях. Что касается флоэмы и ксилемы побега больного дерева, то общее содержание в них железа было выше. При этом содержание железа во флоэме в течение всей вегетации остается более высоким, чем в ксилеме.

Как правило, относительное содержание водорастворимого железа (по отношению к общему его содержанию) выше у здоровых, чем у хлорозных растений. Абсолютное содержание водорастворимого железа в листьях и сердцевине здорового побега в течение всей вегетации было выше, чем у хлорозных. Во флоэме и ксилеме содержание водорастворимого железа в начале вегетации (май) было также выше у здоровых растений. Однако в дальнейшем содержание выравнивается. Уже в сентябре наблюдается значительное преобладание водорастворимого железа в экстрактах из флоэмы больных растений.

Таблица 4
Общий баланс растворимого железа в органах и тканях яблони при последовательном проведении анализа (на сухой вес исходной ткани и в относительных величинах)

Органы и ткани побега	Общее содержание железа в органах и тканях	Водорастворимое железозо		После экстракционной флотации, мкг/г	Коллоидальное железо		Абсорбируемое на катювите		Абсорбируемое на анювите		Сумма железа	
		мкг/г	%		мкг/г	%	мкг/г	%	мкг/г	%	абсорбируемого на анювите	абсорбируемого с флотацией
Здоровая яблоня	159	146	92	143	3	2	54	38	99	69	153	149
Лист*)	314	231	74	220	11	5	82	37	122	56	204	188
Флоэма**)	260	169	65	157	12	7	62	39	94	60	156	135
Ксилема**)	138	97	70	90	7	7	31	35	60	67	91	73
Хлорозная яблоня	134	112	84	97	15	13	41	43	54	56	95	73
Лист*)	392	186	47	143	43	23	62	43	72	51	134	111
Флоэма**)	303	122	40	97	25	20	41	43	56	58	97	84
Ксилема**)	73	52	71	47	5	10	19	41	29	48	52	25

*) Сок плазмный и вакуолярный

**) Водная вытяжка

Наиболее отчетливые различия между здоровыми и хлорозными растениями наблюдаются по содержанию коллоидальной формы железа: оно гораздо выше в соке из листьев и в водной вытяжке из тканей побегов у хлорозных растений, чем здоровых (табл. 4).

Так, в майский срок у хлорозных деревьев содержалось коллоидального железа в листе на 11%, во флоэме — на 18%, ксилеме — на 13% и сердцевине — на 3% больше, чем у здоровых. К концу вегетации, в сентябрьский срок, содержание коллоидального железа резко возросло и составило для листа и флоэмы 42 и 43% от всего количества водорастворимого железа. Что касается содержания его в вытяжке из ксилемы и сердцевины хлорозных побегов, то и в этих тканях абсолютное и относительное содержание коллоидального железа было высокое. Можно предположить, что коллоидальное железо образуется в момент выделения его из тканей и соприкосновения с воздухом. Недостаточное содержание ассимилятов у хлорозных растений, по-видимому, приводит к снижению фонда лигандов для комплексов железа и других металлов. Благодаря этому в соке тканей могут содержаться простые ионы железа, которые легко подвержены окислению. С другой стороны, осаждению железа в соке из тканей хлорозных яблонь, по-видимому, способствует также более высокое содержание кальция и несколько повышенные значения рН тканей.

Электрофоретические исследования природных комплексных соединений железа в соке листьев и водных вытяжках из тканей побегов яблони и винограда

Почти все содержащиеся в растениях природные вещества (белки, аминокислоты, сахара, органические кислоты, амины, полифенолы, порфириновые, индольные, флавоноидные и другие соединения) способны к комплексованию с металлами. Однако, по вопросу о том, какие из этих соединений являются основными лигандами для образования транспортных форм железа в растениях, имеющиеся сведения очень ограничены. Проведено слишком мало исследований и полученные данные носят противоречивый характер Schmid a. Gerloff, 1961; Tiffin a Brown, 1962; Wallace, De Kock, 1965; Tiffin, 1966).

Нам представлялось целесообразным дать общую характеристику растворимых соединений железа и подойти к вопросу о том, в какой мере основные органические компоненты растительных соков (сахара, аминокислоты, органические кислоты) используются в качестве лигандов для транспортных форм железа.

Для понимания физиологической сущности заболевания известковым хлорозом особенно важно исследование тех изменений, какие наступают в состоянии железа при выращивании растений на известковых почвах и тех нарушений обмена веществ, которые характерны для хлороза. Поэтому, наряду с исследованием растворимых соединений железа в пасоке здоровой виноградной лозы, исследованию подвергли сок из листьев и водные вытяжки из проводящих тканей хлорозных и здоровых яблонь.

Исследования 1964 и 1965 гг., проведенные с вытяжками из тканей яблонь и пасокой винограда, показали, что железо в процессе электрофореза мигрирует вместе с аминокислотами, органическими кислотами и сахарами. Доказательством этого является минимум в два раза повышенное содержание железа в пятнах проявленных лигандов по сравнению с «фоном», т. е. участками пятен без этих органических веществ. В 1965 г. исследования были расширены. Сок листа и водная вытяжка из флоэмы, ксилемы и сердцевины побегов яблони прироста текущего года были пропущены параллельно через катионит и анионит. Элюирование с ионообменных смол проводили различными концентрациями соляной кислоты (0,25, 0,75, 1,5 и 4 н HCl). В каждой полученной фракции элюата определяли содержание железа. Вымывание растворами нарастающей концентрации соляной кислоты, адсорбированных на ионитах комплексов, свидетельствует о степени сорбции соединений водорастворимого железа, т. е. говорит о различиях валентности, содержащихся в вытяжках комплексных ионов. В результате этих исследований оказалось, что как в листе, так и в водных вытяжках из тканей побегов, большая часть соединений водорастворимого железа несет отрицательный заряд, так как больше половины железа осаждается на анионите (табл. 4). После удаления HCl из элюатов, они были подвергнуты электрофорезу на бумаге. Большая часть железа во фракциях элюатов мигрирует с органическими веществами, проявляющимися на фореграммах, т. е. с сахарами, аминокислотами и органическими кислотами. При этом содержание железа, адсорбированного на ионитах, у хлорозной яблони значительно ниже, чем у здоровой. Большая часть железа, элюированного как с катионита, так и с анионита, для всех исследуемых объектов большой яблони относится к первой и второй фракциям, в отличие от здоровой. Это свидетельствует о том, что связь с ионитом в этом случае слабее, т. е. валентность большей части комплексов железа в тканях хлорозной яблони по-видимому, ниже, чем в здоровой. Различия состава комплексов у здоровой и большой яблони отмечается не только по валентности, но и по лигандам. Так, у хлорозных объектов

296682

Центральная научная
БИБЛИОТЕКА
Академии наук Киргизской ССР

исследования железа в большей степени связано с органическими кислотами в отличие от здоровых, в которых наблюдается большая корреляция с аминокислотами. Данные по электрофорезу растворимых соединений железа в целом дают основания предполагать, что значительная часть его находится в комплексе с веществами, проявляющимися ниягидрином, резорцинифталатом и бромфеноловым синим.

В таблице 4 дается общий баланс железа в водных вытяжках из листьев, который характеризует потери и возможные ошибки анализов в ходе его последовательных операций. Как уже отмечалось выше, ультрафильтрация приводит к уменьшению содержания железа в соке и водных вытяжках. При этом обнаружена значительная разница в поведении этих жидкостей из хлорозных и здоровых растений: содержание коллоидального железа у первых значительно выше.

Количество железа, адсорбированного в сумме на обоих нонитах в большинстве случаев, точно соответствует количеству его, содержащемуся в ультрафильтрате; небольшие расхождения в трех случаях не превышают 7% и объясняются допустимой ошибкой определения или возможно небольшим загрязнением.

Суммарное количество железа в солянокислых элюатах с колонок также свидетельствует о получении хорошего баланса металла в результате проведенных операций.

Суммарное количество железа, полученное после элюирования с пятен на электрофореграммах, соответствующих сахарам, органическим кислотам и аминокислотам, несколько ниже того, которое содержалось в элюатах, что следует отнести за счет комплексирования железа другими лигандами. Относительная величина этого различия заметно выше у хлорозных растений.

Кроме определения комплексных соединений железа в органах и тканях яблони, нами были проведены аналогичного характера исследования на ^{пасоке} здорового винограда сортов «Жемчуг Сабо (Ж. С.)» и «Шасла Белая (Ш. Б.)» (табл. 5). Из данных таблицы 5 очевидно, что железо пасоки также находится в виде природных комплексов. Большая часть его (54%) адсорбировалась на анионите.

Соединения железа пасоки, адсорбированные на нонитах, элюировали различными концентрациями соляной кислоты. Было получено три фракции (0,25, 0,75 и 1,5 и HCl). Больше всего железа содержалось в I и III фракциях и меньше — во второй. Таким образом, комплексы железа в исследуемых объектах обладают, по-видимому, различной валентностью и различными константами устойчивости. При разделении методом электрофореза этой же пасоки, пропущен-

Таблица 5
Общий баланс растворимого железа (мкг/г) в пасоке виноградной лозы при последовательном проведении анализа

Сорт винограда	Железо в пасоке (до ультрафильтрации)		Железо адсорбированное на нонитах после ультрафильтрации		Железо адсорбированное на нонитах в сумме		Сумма железа, адсорбированного с нонитами	
	до ультрафильтрации	после ультрафильтрации	катионит	анионит	катионит	анионит	катионит	анионит
Жемчуг Сабо	1101	906	466	536	180	256	440	530
	1026	936	436	520	165	302	416	508
Шасла Белая	1101	906	466	536	180	256	440	530
	1026	936	436	520	165	302	416	508
					Сумма (катионит + анионит)			
					1002	956		
					Процент адсорбированного железа в форме катионной / анионной			
					46	54		
					Сумма адсорбированного железа			
					180	256	440	530
					Железо во фракциях элюатов			
					0,25 и HCl			
					катионит	180	440	530
					анионит	256	416	508
					сумма	436	416	508
					0,75 и HCl			
					катионит	72	188	440
					анионит	160	145	530
					сумма	232	243	508
					1,5 и HCl			
					катионит	120	188	440
					анионит	120	98	530
					сумма	308	243	508
					Железо в сумме элюатов трех фракций			
					катионит	120	440	530
					анионит	120	416	508
					сумма	240	416	508

Таблица 6

Содержание железа (мкг/литр сока) в вытяжках электрофоретов, содержащих органические вещества
(Удельный вес различных лигандов в хелатирующей железу в пасоке виноградной лозы)

Сорт винограда	0,25 и HCl						0,75 и HCl						1,5 и HCl						Суммарное содержание железа в участках электрофоретов, полученных из элюатов с катионита и анионита							
	катионит			анионит			катионит			анионит			катионит			анионит										
	аминокислоты	сахара	сумма	аминокислоты	сахара	сумма	аминокислоты	сахара	сумма	аминокислоты	сахара	сумма	аминокислоты	сахара	сумма	аминокислоты	сахара	сумма								
Жемчуг	42	16	68	126	73	26	132	231	46	19	13	80	68	26	16	110	44	54	68	166	38	36	45	120	833	
Сабо	38	26	62	126	85	68	122	276	46	—	54	103	79	—	36	115	36	68	42	146	27	40	36	98	861	
Шаса																										
Белая																										

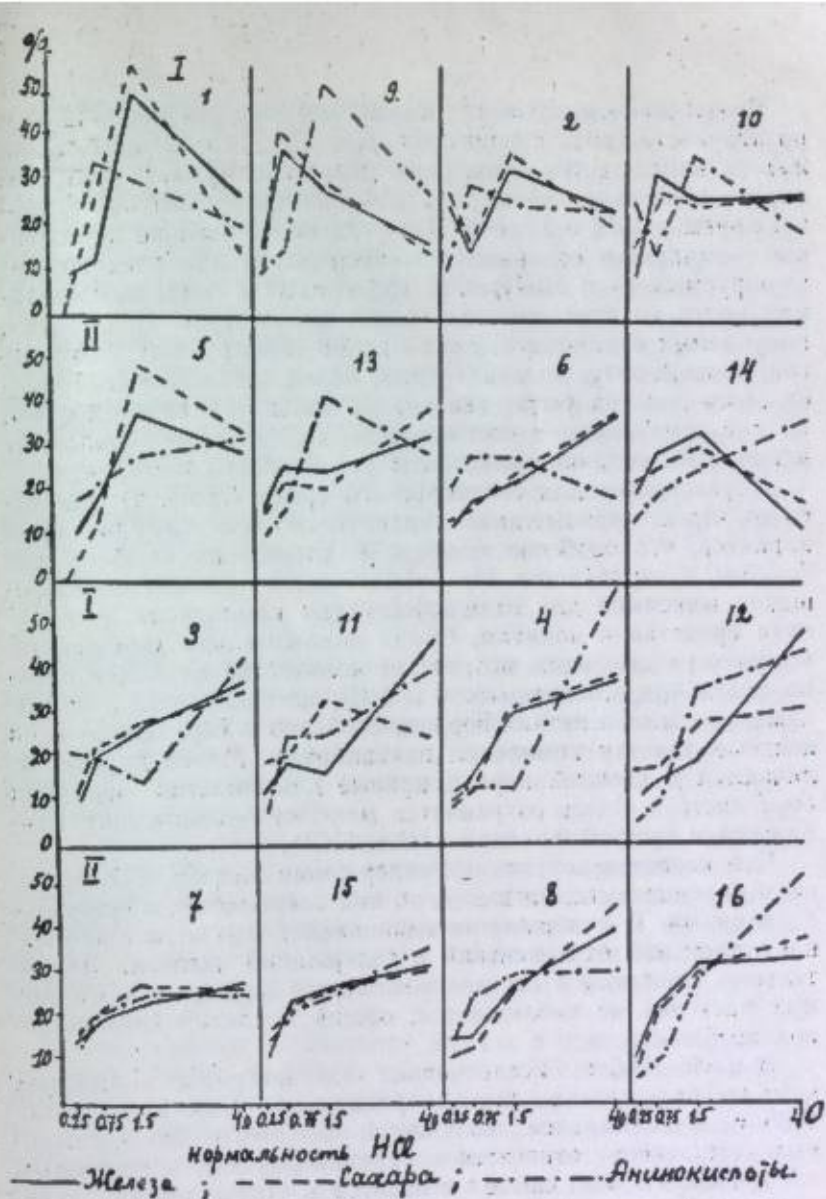
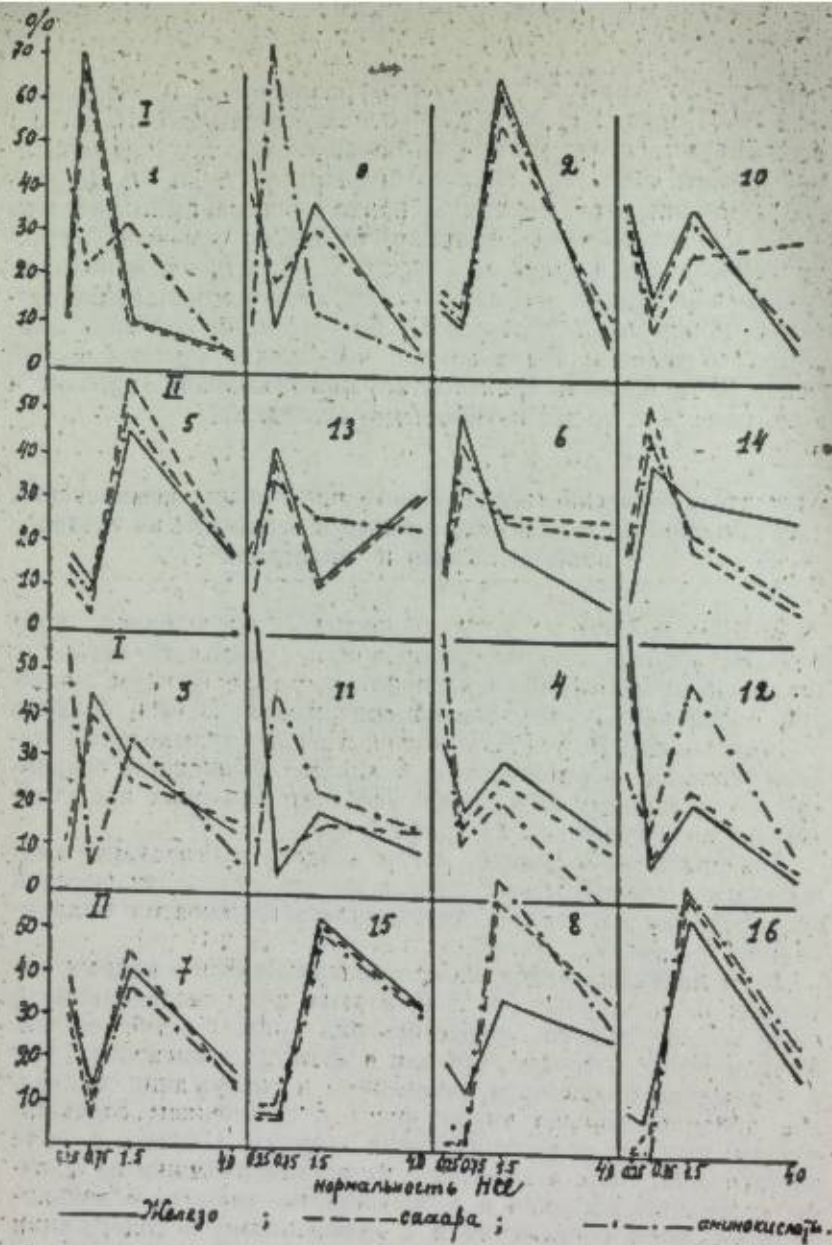
ной через иониты и элюируемой различными концентрациями HCl, оказалось, что для обоих сортов винограда в I фракции максимум железа как в анионной, так и в катионной форме, совпадает с пятнами сахаров (табл. 6). Во второй фракции этот максимум приходится на аминокислоты. Что касается третьей фракции, то здесь отмечены различия по сортам, а именно: у сорта Ж. С. максимум положительно и отрицательно заряженных комплексов железа связан с сахарами, а у сорта Ш. Б. — с органическими кислотами. На основании данных таблицы можно считать, что не менее 83% железа, транспортируемого пасокой, находится в комплексе с тремя изучаемыми лигандами.

Хроматографические исследования природных комплексных соединений железа в соке листьев и вытяжках из тканей побегов яблони и винограда

В 1965 и 1966 гг. были проведены исследования комплексов железа в тканях здоровой и хлорозной яблони с помощью хроматографии на ионитах с последующим анализом солянокислых элюатов на содержание железа, сахаров и аминокислот. Результаты количественных определений железа, сахаров и аминокислот в каждой фракции в процентах к суммарному содержанию по всех фракциях представлены в виде графиков на граф. 4 и 5.

Во фракцию «сахаров» могли входить олигосахара, аминокислоты и глюкозы, подверженные гидролизу соляной кислотой, так как последняя удалялась из элюатов выпариванием на водяной бане.

В составе комплексов железа, содержащихся в водных вытяжках из различных тканей, взятых для исследования в июле месяце, можно подметить ряд общих особенностей. Прежде всего, очевидно, что как в элюатах с катионита, так и в элюатах с анионита изменения в содержании железа, как правило, хорошо коррелируют с изменением содержания сахаров, т. е. редуцирующих веществ. Однако, в ряде случаев, например, в элюатах с катионита вытяжки из флоры хлорозных растений и в большинстве элюатов с анионита, отмечается корреляция и с изменениями в содержании аминокислот. Сравнивая графики, отражающие изменения в содержании комплексов в элюатах, для тканей хлорозных и здоровых растений можно видеть, что различия не являются принципиальными. В одном случае наблюдается преобладание комплексов, более прочно связанных с ионитом, в другом — менее прочно связанных или изменяется соотношение комплексов с сахарами и аминокислотами.



Выделяемые в элюатах комплексы весьма различаются по прочности связи с ионитами. Для каждого лиганда и для железа наблюдается один, реже два, максимума, т. е. превалирует одна или две группы комплексов, преимущественно элюируемые 0,75 и 1,5 н НСІ. Среди положительно заряженных комплексов содержится меньше всего наиболее трудно элюируемых (4 н НСІ), т. е. ход кривых к четвертой фракции почти во всех случаях резко понижается. В элюатах, получаемых с анионита, доля прочно сорбируемых комплексов, по-видимому, поливалентных, более значительна. Причина этого должна быть связана не только с валентностью, но и с изменением в составе аддендов, которые оказывают влияние на величину константы устойчивости комплекса.

Характерным для сентябрьского срока (граф. 4) является то, что все кривые имеют значительно более выравненный характер, что особенно типично в отношении элюатов для флоэмы и сердцевин. Не наблюдается сильно выделяющихся максимумов для отдельных групп комплексов по степени сродства к ионитам. Среди положительно заряженных комплексов несколько возрастает количество наиболее прочно связанных элюируемых 4 н НСІ, по сравнению с образцами, взятыми в летний период, особенно в сердцевине и в ксилеме, где эти комплексы превалируют. Менее других отличаются в осенний период кривые для элюатов фракции сока листьев. Здесь сохраняется максимум содержания комплексов в третьей фракции (1,5 н НСІ).

Что касается корреляции содержания железа с содержанием определяемых лигандов, то она сохраняется в основном с сахарами. В содержании аминокислот наблюдается больше отклонений от изменений в содержании железа. Значительных различий в составе комплексов здоровых и хлорозных растений не наблюдается, общий характер кривых довольно близок.

В июле 1966 г. исследования по изучению природных комплексов железа были продолжены. Как и в опытах 1965 г., максимальное количество положительно заряженных комплексов относится к среднепрочным, элюируемым 1,5 н НСІ. То же самое относится к отрицательно заряженным. Что касается лигандов, то превалирует как у здоровых, так и у хлорозных растений корреляция с аминокислотами, в отличие от июньского срока 1965 г.

Таким образом, можно прийти к заключению, что как пасока, так и сок листьев и водные вытяжки из проводящих тканей побегов, содержат железо в виде комплексных соединений различного состава. Как для виноградной лозы, так и для яблони, характерен большой удельный вес комплексов, заряженных отрицательно.

Как правило, содержание железа во фракции элюатов хорошо коррелирует с содержанием аминокислот и сахаров (редуцирующих веществ). Это вполне естественно, так как эти компоненты, наряду с органическими кислотами, составляют основной фонд возможных лигандов, в соке и водных вытяжках из тканей. Небольшие отклонения, которые наблюдаются в ряде случаев, могут объясняться различными причинами. Во-первых, осаждением на ионитах, не связанных в комплексы аминокислот или аминсахаров, во-вторых, присутствием в соке и вытяжках комплексов аминокислот и сахаров с другими металлами, с иными константами устойчивости, присутствием трехвалентного железа, которое по данным Albert (1963) не дает комплексов с аминокислотами при рН, характерном для большинства растительных тканей, и, вероятно, в большей мере связывается с другими лигандами как полифенолы и другие соединения.

Выводы

1. Железо в растении является при определенных условиях мобильным элементом. Об этом свидетельствует в опытах с радиоактивным изотопом Fe^{59} достаточно быстрое поступление его в листья яблони в вариантах корневой подкормки и передвижение из листьев в корни в вариантах с некорневой подкормкой.

2. Главным каналом передвижения железа, по крайней мере, в сентябрьский срок вегетации, при корневой и некорневой подкормке этим элементом является ксилема; однако, не исключена возможность передвижения его и по флоэме, так как в ней обнаруживается значительная часть радиоактивного железа уже в первые сутки после внесения в почву.

3. Поступление и транспорт железа в отдельных органах растения зависит от формы препаратов железа как при корневой, так и некорневой подкормке их. Наилучшее поступление и передвижение железа для обоих способов подкормки наблюдается для диэтилтриаминпентауксусного железа. Передвижение железа, внесенного в виде $Fe^{59}Cl_3$, происходит несколько слабее.

4. Добавление к $Fe^{59}Cl_3$ ионов меди ($CuSO_4$) при корневой подкормке снижает поступление и транспорт железа в крону дерева, что, по-видимому, объясняется фиксацией железа не только в почве, но отчасти и в корнях растений.

5. Добавление к Fe^{59} — ДТРУ меди в форме комплексоната Cu — ДТРУ при корневой подкормке влияет на поступление железа в крону дерева значительно меньше, чем при взаимодействии солей металлов. Сравнение поступления же-

леза в различных вариантах опыта позволяет сделать вывод, что комплекс Fe^{59} -ДТПУ участвует в транспорте железа при корневой и некорневой подкормке. Однако, при этом происходит частичное разрушение комплексов.

6. На основании данных о поступлении Fe^{59} в отдельные органы и ткани растений при корневом и некорневом внесении, можно утверждать, что железо передвигается в тканях корней, ствола и побегов как в виде природных, так и синтетических хелатных соединений.

7. При получении сока из листьев и водных вытяжек из тканей здоровой виноградной лозы двух сортов («Жемчуг Сабо» и «Шасла Белая»), а также из здоровой и хлорозной яблонь сорта «Штеттинская Красная», часть железа обнаруживается в коллоидальной форме, осаждающейся при ультрафильтрации. Содержание коллоидального железа резко повышено в вытяжках из хлорозных яблонь. Возможно, что вследствие недостатка органических лигандов у растений, болеющих хлорозом, часть железа находится в виде простых ионов.

8. Содержание извлекаемой водой формы железа в тканях хлорозных растений равно, а иногда больше, чем в тканях здоровой яблони, но содержание растворимой формы, не осаждающейся на ультрафильтре, всегда ниже.

9. Методом электрофореза на бумаге и хроматографии на ионообменных смолах показано, что растворимое железо в тканях растений представляет собой положительно или отрицательно заряженные комплексы. При этом количество последних обычно преобладает.

10. В качестве лигандов в связывании железа в растениях принимают участие сахара, аминокислоты и органические кислоты. Солянокислые элюаты с ионообменных смол (после пропускания через смолы соков и вытяжек из тканей) содержат наряду с железом, также аминокислоты и сахара (редуцирующие вещества) и содержание железа во фракциях элюатов, как правило, коррелирует с содержанием этих лигандов.

11. Состав и свойства (заряд, валентность, степень устойчивости) природных растворимых комплексов железа изменяется в зависимости от вида и состояния растения, срока вегетации, а также характера органов и тканей, взятых для исследования. Последнее обстоятельство указывает на то, что транспорт в тканях растений осуществляется активно, т. е. при непрерывном участии его в метаболизме, сопровождающемся изменением состава и свойств природных комплексов.

Материалы диссертации докладывались на научной конференции молодых исследователей, посвященной двадцатилетию Института физиологии растений. Киев, 1966 г.

Основные положения диссертации изложены в следующих работах:

1. Л. К. Островская, С. Н. Зайко. Изменение состояния железа в различных органах яблони при заболевании хлорозом. Микроэлементы в сельском хозяйстве и медицине, вып. 3. Изд-во «Наукова Думка», 1967 г.
2. Л. К. Островская, С. Н. Зайко. Транспорт радиоактивного железа у яблоневых деревьев. Сборник докладов Всесоюзной конференции по применению изотопов и излучений в сельском хозяйстве, М., 1967.
3. Л. К. Островская, С. Н. Зайко. Поступление и передвижение железа в молодых яблоневых деревьях. Агробиология, М., 1967 (в печати).

Р00019. Подписано и печати 27.XI 1967 г. Формат 60×90^{1/16}.
Печ. л. 1,75. Заказ № 5378. Тираж 150.

Типография Объединенного издательства ЦК КП Узбекистана.
Ташкент, 1967 г.