

В. А. БИБЕР и Н. С. БОГОЛЮБОВ

**О БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВЕННОЙ И ТОРФЯНОЙ
ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 7 VII 1950)

Гуминовые кислоты, выделенные из почвы, торфа и бурых углей, служили объектом многочисленных исследований. В. В. Тищенко и М. Д. Рыделевская ⁽⁴⁾ установили, что гуминовые кислоты, выделенные из разных почв, содержат одинаковые количества карбоксильных и фенольных гидроксильных групп. Количество карбоксильных и гидроксильных групп, найденное ими в почвенных гуминовых кислотах, было таким же, как в торфяной гуминовой кислоте. К другому выводу пришли С. С. Драгунов, Н. Н. Желховцева и Е. Н. Стрелкова ⁽⁵⁾. Их исследования показали, что гуминовые кислоты из торфа, чернозема и подзола, выделенные в атмосфере азота, не только отличаются количеством и характером функциональных групп, но и имеют неодинаковое строение ароматического ядра. Авторами предложены структурные формулы гуминовых кислот, выделенных из чернозема и торфа, из которых видно, что гуминовая кислота из чернозема отличается наличием большего количества хиноидных группировок.

Несмотря на успешные результаты химических исследований, биологическая активность гуминовых кислот изучена недостаточно. Между тем, строение гуминовых кислот говорит о том, что эти кислоты могут оказывать значительное влияние на течение окислительно-восстановительных процессов.

Основной причиной, заставившей нас заняться изучением биологической активности гуминовых кислот, было то, что мы обнаружили небольшие количества их в консервированных в темноте при 2—4° изолированных растительных тканях. Консервация растительных тканей в указанных условиях вызывает в них, по В. П. Филатову, образование веществ, позволяющих тканям сохранять жизнь в этих условиях и названных им «биогенными стимуляторами». При настаивании и кипячении таких тканей с водой в раствор переходит весьма небольшое количество гуминовой кислоты. Значительно полнее извлекаются содержащиеся в консервированных растительных тканях фульвокислоты. Небольшие количества гуминовых кислот были найдены нами в водных экстрактах из торфа и чернозема.

Гуминовые кислоты для опытов были получены из низинного торфа и из чернозема. Торф из окрестностей г. Кременца содержал 26,5% влаги и 10,1% золы. Проба чернозема была взята на глубине 25 см и содержала 20,7% влаги. Чернозем и торф измельчались и после удаления неизменившихся растительных остатков обрабатывались спирто-бензольной смесью с последующей сушкой на воздухе. Декальцинирование чернозема велось на холоду 2% соляной кислотой. Гуминовые кислоты

извлекались 1% водным раствором едкой щелочи при нагревании до 70° в течение часа. Из профильтрованных вытяжек осаждение гуминовой кислоты велось соляной кислотой. Осадки гуминовых кислот, промытые 1% соляной кислотой и водой, высушивались при 70°, растирались с водой и подвергались диализу. Диализ продолжался несколько дней.

После очистки диализом содержание минеральных примесей в гуминовой кислоте из чернозема было доведено до 3—4% и получена не содержащая примесей торфяная гуминовая кислота. В диализатах торфяной гуминовой кислоты, кроме фульвокислот, была найдена гуминовая кислота; содержание органических веществ в сухом остатке от диализата составляло 65—67%. Диализаты гуминовой кислоты из чернозема содержали 30—40% органических веществ. Для получения растворимой гуминовой кислотой последнюю многократно обрабатывали при нагревании небольшими порциями воды. Полученные после фильтрации соединенных вытяжек растворы гуминовых кислот, окрашенные в бурый цвет, в проходящем свете делались вишнево-красными.

Результаты анализов растворов гуминовых кислот приведены в табл. 1.

Таблица 1

Источник получения гуминовой к-ты	Плотный остаток в мг/л	Минер. ве- щества в мг/л	pH	Кислот- ность в мл 0,1 N кис- лоты на 1 л	Окисляе- мость в мг кислорода на 1 л	Иодное чи- сло в мг иода на 1 л	Общий азот в мг азота на 1 л
Из чернозема	516	16	3,8	24	240	65	33,0
Из торфа	460	нет	3,63	49	300	115	28,8

Определение pH велось электрометрически. Окисляемость определялась по Кубелю титрованием перманганатом в присутствии серной кислоты. Общий азот определялся по Кьельдалю. Иодное число устанавливалось титрованием 50 мл раствора 0,01 N иодом в присутствии крахмала.

Для наших опытов исходные растворы гуминовых кислот разбавлялись таким количеством воды, чтобы окисляемость их была одинаковой и равной 200 мг кислорода на литр, и подвергались автоклавированию в запаянных ампулах 1 час при 120°. Биологическая активность гуминовых кислот устанавливалась действием их на ферментативную актив-

Таблица 2

	Растворы гуминовых кислот			
	из чернозема		из торфа	
	1 : 100	1 : 1000	1 : 100	1 : 1000
Разность: опыт—контроль . . (мл CO ₂)	+5	+14	+4	+1

ность дрожжей, на развитие прорастающих семян и на заживление кожных дефектов у кроликов. В опытах с дрожжами сбраживание 10% раствора сахара велось в присутствии фосфатного буфера (pH 6,47) при помощи отстоявшейся суспензии продажных прессованных дрожжей. Объем бродильного раствора был равен 200 мл; растворы гуминовых кислот, с окисляемостью 200 мг кислорода на литр, разбавлялись водой и добавлялись к бродильному раствору в количестве 1 мл. Представле-

ние о стимулирующем действии кислот мы получали, учитывая разность в объемах CO_2 , выделившихся в опыте и контроле. В параллельных контрольных опытах расхождение в объемах выделившейся CO_2 не превышало 2 мл. Средние данные из 4 опытов, приведенные в табл. 2, показывают, что гуминовая кислота из чернозема, в отличие от торфяной гуминовой кислоты, сильнее стимулирует процесс брожения.

В опытах с семенами прорастание их велось весной при комнатной температуре (18—20°) в фарфоровых чашках с плоским дном диаметром 5 см. В чашки вливалось по 2 мл раствора Кнопа и такой же объем разбавленного раствора гуминовой кислоты. В контрольные чашки к 2 мл раствора Кнопа прибавлялось 2 мл дистиллированной воды. В каждую чашку помещалось 15 зерен кукурузы, весивших 1,8—1,9 г. Зерна подбирались почти одинакового размера и перед внесением в чашки тщательно промывались водой. Чашки покрывались стеклами, которые снимались на короткое время два раза в сутки. Прорастание в среднем длилось 5—6 суток, после чего корни и ростки отделялись от семян и измерялась их длина и объем. В табл. 3 представлены средние данные из 5 серий опытов, причем действие каждого раствора было проверено на 225—250 зернах. Из данных табл. 3 видно, что гуминовая кислота из чернозема стимулирует рост корней и слабее действует на развитие ростков.

Таблица 3

	Растворы, в которых велось прорастание				
	Гуминовая кислоты из чернозема		Гуминовая кислота из торфа		Раствор Кнопа
	1 : 250	1 : 500	1 : 250	1 : 500	1 : 1
Длина корня в мм .	66,8 (57—79)	68,4 (57—82)	54,8 (51—70)	56 (50—74)	59 (53—74)
Длина ростка в мм .	43,5 (36—49)	40,6 (35—45)	43,3 (35—50)	41 (32—48)	40 (33—44)
Объем 100 корней в см ³	5,6 (5—6,3)	5,6 (5—6,3)	5,9 (5,1—6,4)	6,2 (5—6,5)	4,5 (3,8—5,1)
Объем 100 ростков в см ³	13,2 (11,6—14,2)	13,1 (11,5—14,0)	13,8 (12—14,5)	13,9 (12—14,4)	12,4 (11—13,5)

Растворы торфяной гуминовой кислоты в наших опытах оказывали небольшое стимулирующее действие только на развитие ростков и вызывали изменения в развитии корневой системы: замедляя рост корней в длину, торфяная гуминовая кислота в то же время способствовала увеличению их объема.

В опытах на заживление кожного дефекта у кроликов действие растворов гуминовых кислот было проверено на 10 кроликах для каждого раствора при 8 кроликах в контрольном опыте. Кролики были одного возраста и почти одинакового веса. В день опыта при помощи трепана диаметром 14 мм у всех кроликов на внутренней поверхности уха иссеклась кожа и высеченный кружок отсепарировался ножницами. Площади дефектов измерялись по двум взаимно-перпендикулярным направлениям и рассчитывались, как площади кругов. Инъекции растворов гуминовых кислот делались кроликам через день по 0,5 мл под кожу в область спины. Контрольным кроликам вводился такой же объем физиологического раствора. У кроликов, которым делалась инъекция раствором гуминовой кислоты из чернозема, дефекты заживали на 15—17-й день. Под влиянием торфяной гуминовой кислоты заживление дефектов наступало на 20—22-й день, а в группе контрольных кроли-

ков — на 23—26-й день. Опыты подтвердили стимулирующее действие гуминовых кислот, значительно более сильное у гуминовой кислоты из чернозема.

Выводы

1. Гуминовые кислоты из чернозема и торфа являются биологически активными веществами.

2. Гуминовая кислота из чернозема отличается от торфяной гуминовой кислоты более сильным стимулирующим действием на брожение, развитие семян и на заживление кожных дефектов.

3. Различие в биологической активности почвенной и торфяной гуминовых кислот обусловлено, очевидно, неодинаковым строением ядра и разным количеством и характером функциональных групп, как это было установлено для гуминовых кислот исследованиями С. С. Драгунова.

Украинский экспериментальный институт
глазных болезней
им. В. П. Филатова

Поступило
23 VI 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. Шмук, Тр. Кубанск. с.-х. ин-та, 1, в. 2 (1924). ² Г. Л. Стадников, Химия торфа, 1930. ³ А. Шмук, Бюлл. почвовед, № 5—7 (1930). ⁴ В. В. Тищенко и М. Д. Рыделевская, ДАН, 13, № 3 (1936). ⁵ С. С. Драгунов, Н. Н. Желховцева и Е. Н. Стрелкова, Почвоведение, № 7 409 (1948). ⁶ В. П. Филатов и В. А. Бибер, ДАН, 62, № 2 (1948). ⁷ В. П. Филатов, Оптична пересадка рогівки і тканина терапія, 1948.