

ФИЗИОЛОГИЯ

В. А. БИБЕР и К. М. МАГАЗИНЕР

**О ВЛИЯНИИ ГУМИНОВЫХ И ФУЛЬВОВЫХ КИСЛОТ
НА ДЫХАНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ**

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

Мы установили, что водные растворы почвенной и торфяной гуминовых кислот отличаются разной степенью биологической активности. Структурные формулы почвенной и торфяной гуминовых кислот, предложенные С. С. Драгуновым, Н. Н. Желховцевой и Б. Н. Стрелковой (5), показывают, что они имеют неодинаковое строение и разное количество функциональных групп.

В настоящем исследовании мы ставили себе задачу выяснить влияние полученных из разных источников гуминовых и фульвовых кислот на связанную с окислительным процессом дыхательную функцию живой клетки.

В наших опытах мы пользовались корнями кукурузы, зерна которой замачивались и проращивались в растворах гуминовых и фульвовых кислот, выделенных из чернозема и торфа. Получение гуминовых кислот из чернозема и торфа велось по общепринятой методике. После предварительной обработки спиртобензольной смесью и декальцинирования чернозема 2% соляной кислотой, гуминовые кислоты из чернозема и торфа извлекались при нагревании 1% водным раствором едкой щелочи и осаждались из щелочного раствора соляной кислотой. Очистка гуминовых кислот была проведена с помощью диализа. Для отделения от нерастворимой гуминовой кислоты очищенная диализом гуминовая кислота многократно обрабатывалась при нагревании на водяной бане небольшими порциями дестиллированной воды; полученные вытяжки подвергались фильтрации.

Для получения сравнимых результатов мы пользовались растворами гуминовых кислот с одинаковой окисляемостью. Окисляемость определялась титрованием перманганатом калия в присутствии серной кислоты по Кубелю, после чего каждый раствор гуминовой кислоты разбавлялся таким количеством воды, чтобы окисляемость его составляла 400 мг кислорода на л. Для сохранения без изменения растворы гуминовых кислот разливались по ампулам, последние запаивались и помещались в автоклав на 1 час при 120°. Приготовленные таким образом исходные растворы гуминовых кислот разбавлялись тем или иным количеством дестиллированной воды и применялись для замачивания зерен рисовой кукурузы.

Прорастание велось при комнатной температуре (18—20°) в чашках с плоским дном диаметром 5 см. Во время прорастания чашки покрывались стеклами, которые снимались на короткое время два раза в сутки. Зерна подбирались одного и того же размера и перед опытом тщательно промывались дестиллированной водой. В каждую чашку помещали 15 зерен общим весом 1,8—2,0 г. В чашки вливалось по 2 мл

раствора Кнопа и, кроме того, в опытные чашки 2 мл разбавленного (1:500 и 1:1000) раствора гуминовой кислоты, в контрольные — 2 мл дистиллированной воды. Прорастание длилось 5—6 суток, после чего корни с помощью скальпеля отделялись от зерен. Из каждой чашки для определения дыхания отбиралось 3 корешка длиной 55—60 мм. Остальные корни подвергались измерению. Каждый раствор был испытан на 170—200 зернах. Результаты сведены в табл. 1.

Таблица 1

Растворы, в которых велось прорастание	Длина корня в мм		Объем 100 корней в см ³	
	средн.	гран. колеб.	средн. колеб.	гран. колеб.
Гуминовая к-та из чернозема				
1:500	63,2	53—74	6,0	4,8—6,5
1:1000	65,1	52—78	6,1	4,7—6,5
из торфа				
1:500	51,1	48—69	5,8	4,5—6,0
1:1000	53,0	48—70	5,9	4,5—6,1
Раствор Кнопа 1:1	55,0	50—72	4,6	4,0—5,5

Из данных табл. 1 видно, что растворы гуминовой кислоты из чернозема стимулируют развитие корневой системы, тогда как растворы торфяной гуминовой кислоты замедляют рост корней в длину, но вызывают увеличение их объема.

Дыхание отсепарированных корней определялось по методу Варбурга. Корни длиной 55—60 мм промывались водой и обсушивались фильтровальной бумагой, затем разрезались пополам и в таком виде после взвешивания помещались в сосуд Варбурга, в котором находилось 2 мл раствора Кнопа. Вес 3 корней (6 половинок), помещенных в сосуд Варбурга, колебался в пределах 80—120 мг. В каждом опыте дыхание корней, проросших в испытуемом растворе, определялось параллельно в двух сосудах Варбурга. Контролем служила интенсивность дыхания корней, проросших в растворе Кнопа. Для поглощения CO₂ во внутреннее пространство сосудов Варбурга помещался кусочек фильтровальной бумаги, смоченной 0,2 мл 5% раствора едкого калия. Температура водяного термостата, в который помещались сосуды Варбурга, была 20°. Качательное приспособление давало 80—90 качаний в минуту. Изменения производились каждые 15 мин. в течение 1 часа.

Одновременно велся отсчет и в термобарометре. После окончания опыта корни промывались водой и определялся их сухой вес. Содержание сухого вещества колебалось в пределах 7—9,6 %. Результаты опытов сведены в табл. 2.

Неодинаковая активность гуминовых кислот находит объяснение в различиях структурных формул этих кислот.

Влияние на дыхание фульвовых кислот изучалось в аналогичных условиях. Как известно, солянокислый раствор после отделения гуминовой кислоты содержит фульвовые кислоты, или (по старой терминологии) «апокреновую и креновую» кислоты, состоящие (по А. Шмуку) из продуктов распада почвенного белка.

Для выделения и разделения апокреновой и креновой кислот из торфа мы воспользовались вначале методом, приведенным у К. Д. Глинки. Взболтанные с водой осадки апокрената и крената меди обрабатывались сероводородом. После отделения осадка сульфида меди, растворы свободных кислот разбавлялись таким количеством воды, чтобы их окисляемость равнялась 400 мг кислорода на літр, разливались по ампулам

Таблица 2

Интенсивность дыхания Q_{O_2} (в мм^3 кислорода, поглощенного 1 мг сух. ткани за 1 час)

Растворы, в которых велось прорастание	Средн. из 8 опред.	Гран. колеб.
Гуминовая к-та из чернозема		
1:500	5,72	5,13—7,03
1:1000	5,93	5,09—7,29
из торфа		
1:500	4,80	4,38—5,45
1:1000	4,98	4,8—5,16
Раствор Кнопа 1:1 . . .	4,42	3,7—4,92

и стерилизовались 1 час при 120°. Результаты опытов приведены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние выделенных из торфа фульвовых (апокреновой и креновой) кислот на дыхание корней кукурузы, проросших в присутствии этих кислот (Q_{O_2} в мм^3 кислорода, поглощенного 1 мг сух. ткани за 1 час)

Растворы, в которых велось прорастание	Средн. из 4 опред.	Гран. колеб.
Апокреновая к-та		
1:500	4,6	4,0—5,2
1:1000	5,1	5,0—5,4
Креновая к-та		
1:500	5,2	4,8—5,7
1:1000	4,7	4,6—5,1
Раствор Кнопа 1:1 . . .	4,2	3,9—4,5

Анализы показали, что растворы апокреновой и креновой кислот содержали следы меди. Поэтому, чтобы получить не содержащий примесей раствор фульвовых кислот, мы осаждали их едким барием. Осадок

Таблица 4

Влияние фульвокислот на дыхание корней кукурузы (Q_{O_2} в мм^3 кислорода, поглощенного 1 мг сух. ткани за 1 час)

Растворы, в которых велось прорастание	Средн. из 4—6 опред.	Гран. колеб.
Фульвокислоты, Ва-соли к-рых нерастворимы в воде:		
из чернозема 1:500	3,07	2,7—3,2
1:1000	5,6	5,3—5,97
из торфа 1:500	5,57	5,4—5,77
1:1000	5,9	5,8—5,95
Фульвокислоты, Ва-соли к-рых растворимы в воде:		
из чернозема 1:500	4,4	4,0—5,0
1:1000	6,0	5,3—6,7
из торфа 1:500	5,4	4,6—6,1
1:1000	4,83	4,3—5,3
Раствор Кнопа 1:1	4,21	3,7—4,7

нерасторимых бариевых солей, промытый 2% уксусной кислотой и водой, обрабатывался при нагревании и настаивался с 1% серной кислотой. Избыток ионов SO_4^{2-} устранился осторожным прибавлением карбоната бария. Пользуясь этим же способом, мы приготовили растворы фульвовых кислот, бариевые соли которых растворимы в воде. Окисляемость всех исходных растворов кислот устанавливалась равной 400 мг кислорода на литр. Автоклавирование велось в ампулах 1 час при 120°. Результаты опытов приведены в табл. 4.

Выводы

1. Гуминовые кислоты из чернозема и торфа стимулируют дыхательную функцию клеток растительных тканей.
2. По сравнению с торфяной гуминовой кислотой, растворы почвенной гуминовой кислоты оказывают более сильное стимулирующее действие на дыхание корней прорастающих семян.
3. Стимуляторами дыхания являются также сильно разбавленные растворы фульвовых кислот торфа и чернозема. Сравнительно небольшая концентрация фульвовых кислот чернозема вызывает угнетение.
4. Растворы гуминовой и фульвовых кислот чернозема при соответствующей концентрации почти одинаково стимулируют дыхание, тогда как активность фульвовых кислот торфа несколько больше, чем активность полученной из него гуминовой кислоты.

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

Поступило
23 VI 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ К. Д. Глинка, Почвоведение, 1937. ² С. П. Кравков, Курс общего земледелия, 1, 1928. ³ А. Шмук, Бюлл. почвоведа, № 5—7 (1930). ⁴ О. П. Чепинога, Биохим. журн., 13, № 3 (1938). ⁵ С. С. Драгунов, Н. Н. Желховцева и Б. Н. Стрелкова, Почвоведение, № 7, 409 (1948).