

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ТОРФА, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ МЕХАНОАКТИВАЦИИ¹

Исследованы биостимулирующие свойства гуминовых кислот механоактивированного торфа и коммерческого препарата гуминовых кислот бурых углей. Показано, что механохимическая активация торфа значительно увеличивает выход гуминовых кислот из торфа, которые обладают выраженными биостимулирующими свойствами по отношению к растениям и микроорганизмам.

Ключевые слова: механоактивация, торф, гуминовые кислоты, микроорганизмы, растения, биостимулирующие свойства.

Отдельные компоненты органического вещества торфа неравноценны по биологической активности. В наибольшей степени исследована активность гуминовых препаратов [1, 2]. Гуминовые кислоты (ГК) являются основными компонентами в торфе, определяющими его практическое значение. Эти вещества обладают физиологической активностью по отношению к растениям и некоторым штаммам микроорганизмов – они могут служить для них источником микро- и макроэлементов элементов и ускорять их поступление в растения в виде различных форм. По мнению большинства исследователей, поступление ГК в неизменном виде в растение через клеточные мембраны маловероятно из-за больших размеров их молекул [3], вследствие чего ГК, по-видимому, не усваиваются растением и могут влиять на него косвенно через изменение физических и химических свойств почвы [4]. Механоактивация является новым эффективным методом модификации состава и свойств природных физиологически активных веществ. Она позволяет максимально перевести гуминовые вещества в растворимое состояние, уменьшить молекулярную массу, повысить реакционную активность, т. е. частично деструктурировать [5, 6].

Целью данной работы являлось исследование биостимулирующих свойств ГК, полученных методом механоактивации.

В качестве объектов использовали ГК верхового сфагнового торфа месторождения «Темное» Томской области с низкой степенью разложения (5 %) и коммерческий препарат ГК бурых углей производства фирмы Aldrich (Германия).

Механохимическую обработку торфа проводили в планетарной мельнице АПФ-4 с дискретным режимом работы (разработка Института химии твердого тела и механохимии СО РАН, г. Новосибирск). Ускорение воздействующих шаров из нержавеющей стали диаметром 10 мм составляло 200 м/с², время обработки – 2 мин при температуре

20 °С. Обработка торфа осуществлялась без реагентов и с добавкой твердой щелочи 3 % NaOH.

Выделение ГК из образцов торфа проводили по комплексной схеме для растительного сырья [7]. Из данных образцов выделяли ГК (0.1 н NaOH и 10 % HCl) после экстракции водорастворимых компонентов – полисахаридов и полифенолов ($t = 95\text{ °C}$), битумов (CH₂Cl).

Аборигенную микрофлору изучали на примере трех физиологических групп микроорганизмов, участвующих в процессах создания почвенного плодородия. К ним относятся: гетеротрофные бактерии, растущие на мясо-пептонной агаризованной среде (МПА), актиномицеты, растущие на крахмало-аммиачном агаре (КАА), и микромицеты, растущие на среде Чапека. Их численность определяли методом посева на селективные среды [8]. Каталазную активность почвы определяли газометрическим методом и выражали в мл O₂, выделившегося на 1 г почвы за 1 мин. Полифенолоксидазную, пероксидазную и уреазную активность почвы определяли фотокolorиметрическими методами [9].

Эксперименты проводили в полевых условиях. Для этого использовали площадки размером 50 см², которые представляют собой участки почвы, ограниченные деревянной рамкой на глубину 30 см. В качестве модельного грунта использовали универсальный нейтральный почвогрунт «Гарант» (производства ПК «Темп-2, Томской области). На каждый участок почвы вносили по 100 семян. В качестве тест-объекта служила твердая пшеница (лат. *Triticum durum*).

Повторность опыта трехкратная. Длительность эксперимента составляла 20 дней, с поливом водой (контроль) или соответствующими растворами ГК. Растения поливали по мере необходимости до 70 % от полной влагоемкости. Исследовались растворы ГК в концентрации 0.5 г/л: рассчитанное количество ГК растворяли в небольшом количестве щелочи, нейтрализовали 1 М HCl и доводили раствор дистиллированной водой до

¹ Работа выполнена при поддержке Лаврентьевского конкурса молодежных проектов СО РАН (2010–2011 гг.) и программы «У.М.Н.И.К.».

метки. В качестве тест-откликов определяли всхожесть растений, длину и сухой вес надземной части растений.

Схема опыта:

- грунт – (Контроль),
- грунт + ГК Aldrich (П+ГК1),
- грунт + ГК исходного торфа (П+ГК2),
- грунт + ГК торфа, механоактивированного без добавок (П+ГК3),
- грунт + ГК торфа, механоактивированного с 3 % NaOH (П+ГК4).

Механоактивация в присутствии реагентов приводит к изменению выхода и качественных характеристик основных компонентов торфов. Известно, что механоактивация торфа влияет на выход ГК, который зависит от типа устройства, среды обработки и вида торфа [6]. Прирост выхода ГК возможен за счет деструкции трудногидролизуемых веществ и уменьшения молекулярной массы компонентов. Для верхового торфа во всех случаях обработки по сравнению с исходным торфом повышается выход ГК в 2–7 раз (рис. 1). Наибольшее количество ГК выделено из торфа после механоактивации с 3 % NaOH.

Результаты опытов, проводимых в полевых условиях, показали, что в вариантах, где для полива применялись растворы ГК, происходит увеличение численности аборигенной почвенной микрофлоры в 3–5 раз (табл. 1). Наибольшее увеличение наблюдается при использовании ГК3 и ГК4.

Каталаза осуществляет распад различных перекисей и играет существенную роль в кислородном

балансе почвы. Основными оксидоредуктазами, катализирующими процесс гумусообразования, являются полифенолоксидаза и пероксидаза. Известно, что почвенные фенолоксидазы играют важную роль в процессах гумификации, оказывают защитное действие, разлагая различные ксенобиотики. Активность уреазы является важным показателем интенсивности процессов мобилизации почвенного азота, без которого невозможно нормальное развитие растений [9, 10].

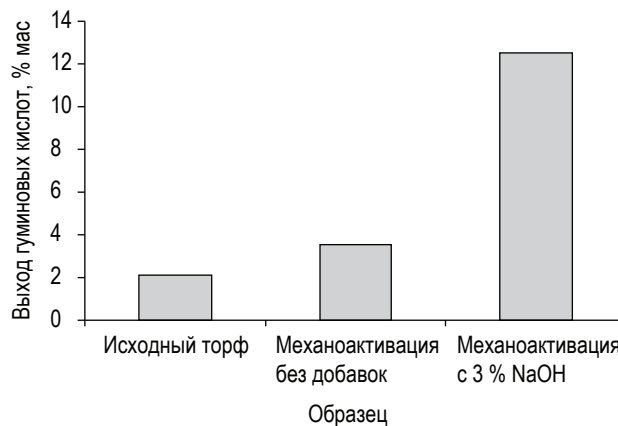


Рис. 1. Изменение выходов ГК

Выявлена положительная корреляция между динамикой численности микроорганизмов и активностью ферментов. С применением ГК активность всех изучаемых ферментов к концу эксперимента возрастает в 1.5–2.5 раза по сравнению с контролем. Наибольший эффект оказали ГК3 и ГК4 (табл. 2).

Таблица 1

Влияние гуминовых кислот на численность изучаемых микроорганизмов

Вариант опыта	Количество микроорганизмов, млн/1 г почвы					
	МПА	КАА	Чапика	МПА	КАА	Чапика
Исходное	1.1±0.08	0.4±0.06	0.1±0.04			
	3 дня			20 дней		
Контроль	2.2±0.1	0.9±0.2	0.6±0.07	4.1±0.2	4.9±0.25	2.9±0.1
П+ГК1	3.6±0.15	2.0±0.1	1.7±0.1	12.1±0.3	16.0±0.3	9.1±0.4
П+ГК2	3.7±0.2	1.9±0.25	1.9±0.25	12.3±0.2	15.3±0.4	9.5±0.3
П+ГК3	4.5±0.09	5.0±0.3	3.2±0.34	16.9±0.3	18.9±0.3	12.9±0.2
П+ГК4	4.9±0.2	5.2±0.34	3.4±0.21	17.7±0.1	20.0±0.5	14.0±0.3

Таблица 2

Влияние гуминовых кислот на ферментативную активность почвы

Вариант опыта	Активность ферментов			
	Каталаза, мл O ₂ /(г почвы в мин)	Полифенол-оксидаза, мг хинона за 30 мин на 1 г почвы	Пероксидаза, мг хинона за 30 мин на 1 г почвы	Уреазы, мг NH ₃ на 1 г почвы за 1 ч
Исходное	0.4±0.1	0.12±0.01	0.21±0.02	0.29±0.02
	через 20 суток			
Контроль	0.9±0.2	0.19±0.02	0.29±0.01	0.39±0.01
П+ГК1	2.2±0.2	0.3±0.01	0.39±0.04	0.59±0.02
П+ГК2	2.3±0.1	0.32±0.03	0.42±0.04	0.67±0.02
П+ГК3	2.5±0.2	0.39±0.02	0.49±0.03	0.91±0.04
П+ГК4	2.6±0.2	0.4±0.02	0.52±0.02	0.98±0.03

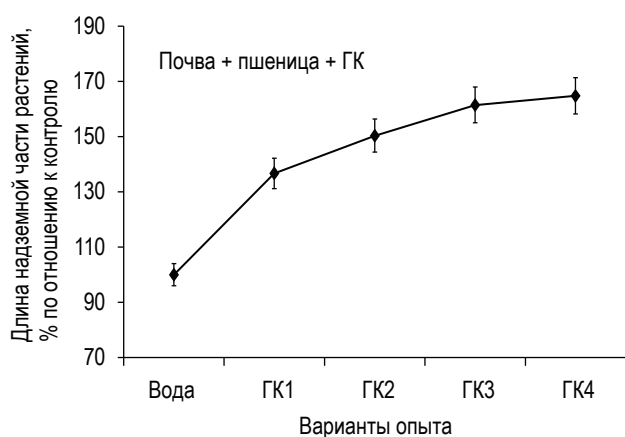


Рис. 2. Длина надземной части растений пшеницы

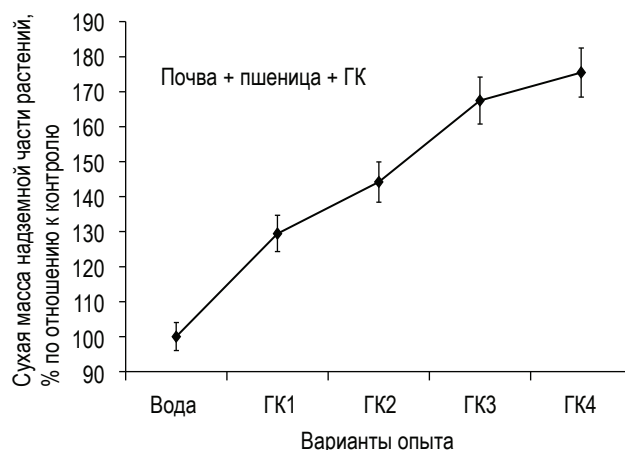


Рис. 3. Сухая масса надземной части растений пшеницы

По результатам вегетационного опыта с почвой установлено, что всхожесть семян в конце опыта составила 96–99 % для всех вариантов полива. Максимальная всхожесть в последнем случае наблюдалась при поливе растворами ГК3 и ГК4.

Биостимулирующее действие растворов ГК проявилось в увеличение длины и сухой массы надземной части растений по сравнению с контролем (рис. 2 и 3). Длина надземной части растений увеличилась на 36–66 % относительно контроля, максимальное увеличение наблюдалось в вариантах с применением ГК3 и ГК4 – 61–66 % соответственно (рис. 2).

Применение растворов ГК позволило повысить массу надземной части пшеницы на 70–75 % (рис. 3).

Наибольший стимулирующий эффект на растения пшеницы по увеличению их длины и сухой

массы на почве оказали препараты механоактивированного торфа ГК3 и ГК4.

Таким образом, показано, что использование препаратов ГК механоактивированного торфа приводит к увеличению численности основных физиологических групп микроорганизмов, повышению ферментативной активности. Механоактивация торфа может быть причиной увеличения доступности отдельных компонентов и частей молекул, в том числе микро- и макроэлементов, входящих в состав ГК, которые используются для питания почвенными микроорганизмами.

Установлено, что исследованные ГК проявляют биостимулирующие свойства по отношению к семенам пшеницы. Наибольший эффект при этом оказали ГК торфа, механоактивированного в присутствии щелочи: длина и сухая масса надземной части возрастает до 60–75 % по отношению к контролю.

Список литературы

1. Алиев С. А. Азотфиксация и физиологическая активность органического вещества почв. Новосибирск: Наука, 1988. 145 с.
2. Соколов Б. Н., Колесин В. Н., Ямпольский А. Л. и др. Торф в народном хозяйстве. М.: Недра, 1988. 268 с.
3. Пивоваров Л. Р. О природе физиологической активности гуминовых кислот в связи с их строением // Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. Киев: Днепрпетр. сельхозинститут, 1962. С. 101–123.
4. Александрова И. В. О физиологической активности гумусовых веществ и продуктов метаболизма микроорганизмов // Органическое вещество целинных и освоённых почв. М.: Наука, 1972. С. 30–70.
5. Хренкова Т. М. Механохимическая активация углей. М.: Недра, 1993. 176 с.
6. Иванов А. А. и др. Влияние механохимической активации на состав и свойства гуминовых кислот торфов // Изв. Томского политехн. ун-та. 2006. Т. 309. № 5. С. 73–77.
7. Стадников Г. Л. Химия торфа. 2-е изд. М.: Изд-во АН СССР, 1932. 68 с.
8. Звягинцев Д. Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во МГУ, 1991. С. 7–17.
9. Инишева Л. И. и др. Руководство по определению ферментативной активности почв и торфов. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2003. С. 42–59.
10. Рожанская О. А., Инишева Л. И., Строева Н. С., Шилова Т. В. Тестирование *in vitro* регуляторной активности нового стимулятора роста из торфа // Вестн. Томского гос. пед. ун-та. 2010. Вып. 3 (93). С. 128–129.

Иванов А. А., кандидат химических наук, научный сотрудник.

Институт химии нефти СО РАН.

Пр. Академический, 4, г. Томск, Томская область, Россия, 634021.

E-mail: ivanov@ipc.tsc.ru

Филатов Д. А., кандидат биологических наук, научный сотрудник.

Институт химии нефти СО РАН.

Пр. Академический, 4, г. Томск, Томская область, Россия, 634021.

E-mail: filatov@ipc.tsc.ru

Материал поступил в редакцию 26.11.2010.

A. A. Ivanov, D. A. Filatov

BIOLOGICAL ACTIVITY OF PEAT HUMIC ACIDS RECEIVED BY A MECHANOACTIVATION METHOD

Biostimulating properties of humic acids of mechanoactivated peat and the commercial preparation of humic acids from brown coal have been investigated. It was shown, that a mechanochemical activation of peat considerably increases the yield of humic acids from peat, which possess the expressed biostimulating properties in relation to plants and microorganisms.

Key words: *mechanoactivation, peat, humic acids, microorganisms, plants, biostimulating properties.*

Ivanov A. A.

Institute of Petroleum Chemistry SB RAS.

Pr. Akademicheskiiy, 4, Tomsk, Tomsk region, Russia, 634021.

E-mail: ivanov@ipc.tsc.ru

Filatov D. A.

Institute of Petroleum Chemistry SB RAS.

Pr. Akademicheskiiy, 4, Tomsk, Tomsk region, Russia, 634021.

E-mail: filatov@ipc.tsc.ru