

УДК 631.417.2

ПОСТУПЛЕНИЕ В РАСТЕНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ФРАКЦИЙ ГУМУСОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ПОЧВ ПОДЗОЛИСТОГО ТИПА

К. Ш. ИБРАГИМОВ, А. Д. ФОКИН

(Кафедра прикладной атомной физики и радиохимии и кафедра почвоведения)

Результаты лабораторных и натуральных опытов [3, 9] показали, что из свежих растительных остатков в растения могут поступать сахара, аминокислоты, органические кислоты, растворимые гетероциклы и другие неспецифические органические соединения. Предполагалось, что из биоорганических остатков различной степени разложения в растения поступают и низкомолекулярные продукты начальных стадий гумификации.

Настоящая работа посвящена изучению возможности поступления в растения специфических гумусовых веществ. Необходимость такого рода исследований обусловлена тем, что последние составляют основную часть большинства органических веществ минеральных почв; в почвах таежной зоны значительная часть этих соединений присутствует в почвенном растворе, а в отдельные периоды их содержание превышает уровень минеральных компонентов [8, 11]. Кроме того, гумусовые вещества оказывают большое влияние на многие важные физиолого-биохимические функции растений.

Объекты и методика исследований

В качестве объектов были выбраны почвы подзолистого типа под пологом леса (с. Белый Раст Московской области). Характеристика почв дана в работе [8].

Исследование проводили с отдельными молекулярными фракциями гумусовых веществ, полученными путем длительного компостирования меченой ^{14}C растительной массы, в которой активность метаболитов и активность запасных веществ практически не различались. Молекулярные массы определяли по значениям элюиционных объемов на основании экспериментальных калибровочных кривых [8].

Водный экстракт из компоста отделяли от грубых примесей центрифугированием, концентрировали в вакуумном испарителе при температуре не выше 60° , снова центрифугировали. Вещества, входящие в центрифугат, разделяли по молекулярным массам, используя систему гелей молселект G-10 и сефадекс G-50, G-75. В процессе разложения растительной массы (корней ячменя) формировались фракции со следующими молекулярными массами: 320, 480, 1260, 8400, 12000. В работе использовались только фракции с молекулярными массами более 1000. По элементному составу выделенные вещества были близки почвенным гумусовым веществам, в частности фульвокислотам. ИК-спектры имели ряд полос поглощения, которые свойственны гумусовым веществам. Значения E — оптическая плотность $0,001\%$ растворов при длине волны 465 нм и толщине слоя 1 см — для выделенных фракций находились в пределах $0,010$ — $0,013$, что также указывает на близость полученных препаратов к гумусовым веществам фульватного типа. Полученные фракции могут служить моделью гумусовых веществ в экспе-

риментах с растениями. Радиоактивная метка позволяет изучать поступление гумусовых веществ в растения и идентифицировать органические соединения в них.

Опыты проводили в лабораторных и натуральных условиях. Для лабораторных экспериментов использовали плексигласовые сосуды; одни из них наполняли образцами гумусового горизонта дерново-подзолистой почвы, другие — кварцевым песком. Были предусмотрены стерильные и нестерильные варианты. Для создания антисептических условий почву и песок прогревали в автоклаве, затем в нее вводили смесь антибиотиков, включающую стрептомицин — 20 мг/л , пенициллин — 10 и хлорамфеникол — 10 мг/л [4]. После этого высаживали пророщенные семена, обработанные 5% бромной водой. В стерильных песчаных культурах исследовали баланс ^{14}C гумусовых веществ. Во всех опытах изучали поступление в растения ^{14}C отдельных фракций гумусовых веществ. Вычисляли процентное отношение активности в зеленой биомассе к введенной активности. Этот показатель по существу является коэффициентом, характеризующим вынос гумусовых веществ из почвы и песка. Методика измерений активности изложена ранее [3, 9].

О поступлении в растения гумусовых веществ судили по содержанию в растениях меченых ароматических и алифатических фрагментов (компонентов гумусовых молекул), которое определяли методом ступенчатого окисления органических веществ; их ароматическую природу устанавливали по выходу бензолпропиокарбонных кислот [5]. Сравнивали соотношение ядерных и алифатических фрагментов в исходных гумусовых препаратах и в разных органах

растений. Растительные пробы измельчали, помещали в стаканчики, куда вносили сначала слабый раствор щелочи, а затем перманганат калия (вначале на холоду, а потом при нагревании на водяной бане). По окончании окисления, которое длилось 22 ч, избыток перманганата калия осаждали этанолом. Из фильтрата после нагревания и добавления хлористого бария осаждали меченные ^{14}C продукты окисления: соли щавелевой и бензолполикарбонновых кислот. В осадке учитывали суммарную активность меченых ароматических и алифатических фрагментов. После растворения осадка в солянокислом растворе соли щавелевой кислоты разрушались до меченой двуокиси углерода. В полученном растворе определяли активность бензолполикарбонновых кислот и по разности находили активность алифатических фрагментов. Данные использовали для установления соотношения активности бензолполикарбонновых кислот и оксалатов в органах растений, а также для определения общего поступления в них ядерных ароматических и алифатических фрагментов гумусовых молекул.

В процессе проведения группового анализа углеводов в растениях, выращенных при использовании фракции меченого гумуса с молекулярной массой 1260, определялась возможность включения поступивших в растения гумусовых веществ в метаболиты. В ходе анализа надземные органы растений обрабатывали этанолом, водой и подвергали их ферментативному гидролизу. В полученных экстрактах углеводы отделяли от белков [6] и в метаболитах определяли активность методом жидкостного сцинтилляционного счета. В опыте был предусмотрен контрольный вариант, в котором групповому анализу подвергали растительную массу, механически смешанную с гумусом.

Данные о поступлении в растения гумусовых веществ из почвы сравнивали с общим количеством биомассы, созданной в процессе фотосинтеза. Пробные площадки выбирали под двумя типами мохово-травянистой растительности: 1) зеленые и сфагновые мхи, 2) травянистые растения.

Сразу после снеготаяния на контрольные микроплощадки размером 10×10 см² под дернину и под моховый очес в слой мощностью 8 см вносили меченые гумусовые вещества в виде раствора (смесь фракций) в количестве 0,42 г на площадку (0,20 г углерода). Почву перемешивали с внесенными гумусовыми веществами и закрывали дерниной или моховым очесом. Общее содержание почвенного гумуса (по Тюрину) в меченом объеме почвы составляло около 100 г. Следовательно, количество внесенных гумусовых веществ было весьма незначительным по сравнению с содержанием почвенного гумуса. Предварительно проведенные эксперименты, посвященные изучению взаимодействия меченых гумусоподобных

веществ с почвой, показали, что через несколько суток в системе достигается сорбционное равновесие. Большая часть введенных гумусоподобных веществ переходит в твердую фазу почвы, но она все еще находится в состоянии динамического равновесия с гумусовыми веществами, присутствующими в почвенном растворе. В этом случае введенные в систему меченые гумусоподобные соединения можно рассматривать как метку подвижных форм почвенного гумуса, который также находится в динамическом равновесии между гумусовыми веществами почвенного раствора и твердой фазой почвы. Данная форма гумуса будет участвовать в молекулярном изотопном обмене и благодаря этому радиоактивная метка распределится в некоторой части почвенного гумуса, которую можно условно называть изотопнообменным гумусом.

Общее количество изотопнообменного гумуса, составляющего основной фонд подвижного гумуса почвы, определяли через 15 дней после внесения меченых гумусовых веществ в почву контрольных микроплощадок. По существу такой способ определения является вариантом метода изотопного разбавления [7].

Для установления содержания изотопнообменного гумуса была взята почва объемом 1000 см³ из зоны внесения метки и приготовлена водная вытяжка при соотношении почвы и воды 1:5. В водной вытяжке определяли общее содержание гумуса и активность. Содержание изотопнообменного гумуса g_i (в мг на 1000 см³ почвы) рассчитывали по формуле

$$g_i = \frac{g_g \cdot A_{\Sigma}}{A_g \cdot V},$$

где g_g — содержание гумуса в водной вытяжке, мг; A_g — активность гумуса в водной вытяжке, Бк; A_{Σ} — общая активность, введенная в почву, Бк; V — объем меченой зоны на контрольных микроплощадках (1000 см³).

Удельную активность изотопнообменного гумуса рассчитывали по формуле

$$a_g = \frac{A_{\Sigma}}{g_i}, \quad \text{Бк/мг.}$$

При помощи a_g по активности в пробе растений рассчитывали общее количество гумусовых веществ g_p , поступившее в растения из меченой зоны к моменту измерения,

$$g_p = \frac{A_p}{a_g}, \quad \text{мг}$$

где A_p — активность в пробе растений, Бк/100 мг; a_g — удельная активность изотопнообменных гумусовых веществ в почве, Бк/мг.

Результаты и их обсуждение

В стерильных и нестерильных песчаной и почвенной культурах (табл. 1) обнаружено поступление углерода гумусовых веществ в корни и надземные органы ячменя (срот Московский 121). Наблюдалось некоторое снижение коэффициентов использования углерода высокомоле-

Коэффициенты использования ячменем углерода меченых фракций гумусоподобных веществ (% от введенной в сосуд активности)

Среда	Стерильный вариант			Нестерильный вариант		
	молекулярные массы фракций меченого гумуса					
	1260	8400	12 000	1260	8400	12 000
Песок	0,96 ±0,13	0,65 ±0,12	0,21 ±0,04	0,71 ±0,12	0,45 ±0,09	0,22 ±0,04
Гумусовый горизонт	0,76 ±0,11	0,51 ±0,11	0,29 ±0,04	0,46 ±0,07	0,42 ±0,06	0,31 ±0,04

кулярных фракций меченого гумуса в стерильной и нестерильной песчаной, а также в стерильной почвенной культурах. В варианте с нестерильной почвенной культурой наметилась тенденция к выравниванию коэффициентов использования меченых гумусовых веществ с различной молекулярной массой. Возможно, это связано с процессами микробиологической трансформации вводимых в почву меченых гумусовых веществ, однако данный вопрос нами не изучался.

В условиях стерильных песчаных культур был исследован баланс углерода меченых фракций гумусовых веществ, который включал следующие основные звенья: 1) количество ^{14}C гумусовых веществ в составе растений в рассматриваемый период; 2) количество биологически окисленных гумусовых веществ, поступивших в растения, определялось непосредственно по выделившемуся из растений $^{14}\text{CO}_2$; 3) остаток ^{14}C гумусовых веществ, не использованных растениями. В стерильной песчаной культуре минерализация введенных гумусовых веществ в субстрате практически отсутствовала.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что поступление в растения гумусовых веществ с высокой молекулярной массой уменьшается, при этом снижается выделение меченой двуокиси углерода; последнее, вероятно, связано с трудностью расщепления в растениях макромолекул гумусовых веществ.

Поступившие в растения гумусовые вещества частично используются ими в качестве энергетического материала. Из надземных органов растений выделяется 5—8 % поступившего в них углерода гумусовых веществ. Выделившийся из растений в виде двуокиси углерода меченый углерод гумусовых веществ составляет около 1 % меченого углерода в корнях и надземных органах (табл. 2).

В опытах с индивидуальными органическими соединениями количество меченого углерода, выделившегося из растений в виде двуокиси углерода, составило около 50 % меченого углерода в зеленых органах и около 20 % такового в целых растениях, включая корни [3].

Результаты исследований показали (табл. 2), что роль поглощенных растениями гумусовых веществ как энергетического материала весьма незначительная. Различия в количестве включенных в окислительный метаболизм растений поглощенных извне индивидуальных

Таблица 2

Баланс ^{14}C гумусовых веществ в стерильных песчаных культурах (% от активности, введенной в сосуд)

Количество *С	Молекулярные массы фракций гумусовых веществ		
	1260	8400	12 000
В листьях ячменя	0,96±0,13	0,65±0,12	0,21±0,04
В корнях ячменя	6,20±0,75	3,46±0,41	1,86±0,24
Выделившееся из растений	0,08±0,03	0,05±0,03	0,014±0,00
Не использованное растениями	92,76±0,61	95,84±0,75	97,92±0,81

органических соединений и гумусовых веществ объясняются инертностью последних. Гумусовые вещества медленно передвигаются по растению, большая их часть концентрируется в корнях, где содержание ^{14}C гумусовых веществ в 5—7 раз выше, чем в надземных органах. В опытах с индивидуальными органическими соединениями их содержание в корнях лишь в 1,5—2 раза превышало количество в надземных органах [3].

Таким образом, в экспериментах выявлены относительная локализация гумусовых веществ в корнях и их слабая окисляемость при поступлении в надземные органы растений. Возможно, это объясняется тем, что молекулярная масса гумусовых веществ более высокая, чем индивидуальных органических соединений, а также различной структурой их молекул.

Хотя углерод меченых гумусовых веществ обнаруживается в растениях и частично используется ими в качестве энергетического материала, все это, однако, однозначно не доказывает, что в растения поступают гумусовые молекулы без изменения. Даже в стерильных условиях возможно селективное поглощение каких-либо отдельных фрагментов гумуса, например, вследствие ферментативного расщепления гумусовых молекул на поверхности корня. Наконец, может происходить трансформация гумусовых молекул внутри растений, в растительных тканях. Для доказательства поступления в растения гумусовых молекул определялось наличие в них ядерных (ароматических) и алифатических фрагментов. Методом ступенчатого окисления растительных тканей сравнивалось соотношение ядерных и алифатических фрагментов в исходных гумусовых веществах и после их поступления в органы растений. Ароматические и алифатические фрагменты гумусоподобных веществ были обнаружены во всех органах растений (табл. 3).

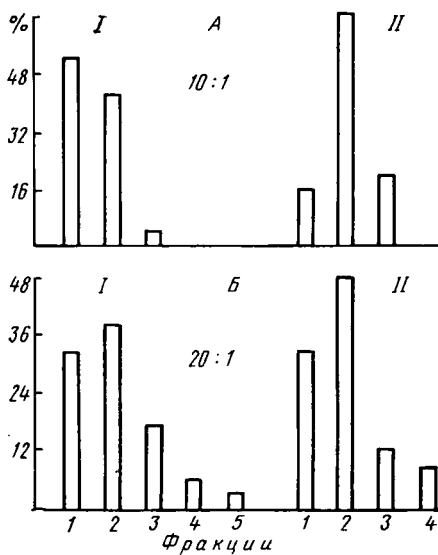
При увеличении молекулярной массы фракций гумуса отношение ^{14}C бензолполикарбонновых кислот к алифатическим фрагментам в стеблях и листьях растений несколько возрастает. Вероятно, это связано с увеличением соотношения ядерных и алифатических фрагментов в высокомолекулярных фракциях гумусовых веществ.

В стеблях растений отношение бензолполикарбонновых кислот к алифатическим фрагментам несколько выше, чем в листьях. Возможно, за время эксперимента, продолжавшегося две недели, в растениях началось разделение поглощенных гумусовых веществ на менее подвижную ядерную часть и более мобильные алифатические фрагменты. Это подтверждается тем, что общее накопление ядерных фрагментов в стеблях в 5—7 раз превышает содержание в них алифатических фрагментов. В листьях же наблюдается относительное накопление алифатических фрагментов.

Таблица 3

Общее поступление ядерных (числитель) и алифатических (знаменатель) фрагментов и их соотношение в корнях и надземных органах ячменя

Молекулярные массы фракций гумуса	Исходные вещества	Стебли	Листья	Корни
Общее поступление фрагментов, % от содержания в исходном гумусе				
1260	—	$0,80 \pm 0,21$	$0,59 \pm 0,15$	$5,02 \pm 0,75$
		$0,21 \pm 0,09$	$3,70 \pm 0,75$	$5,67 \pm 0,81$
8400	—	$0,23 \pm 0,04$	$0,19 \pm 0,02$	$1,30 \pm 0,26$
		$0,05 \pm 0,01$	$1,67 \pm 0,35$	$1,28 \pm 0,31$
12000	—	$0,07 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,02$	$0,44 \pm 0,15$
		$0,016 \pm 0,008$	$0,44 \pm 0,09$	$0,46 \pm 0,08$
Соотношение ядерных и алифатических фрагментов				
1260	$1,80 \pm 0,21$	$6,72 \pm 0,71$	$0,22 \pm 0,05$	$1,82 \pm 0,25$
8400	$2,61 \pm 0,28$	$10,5 \pm 1,56$	$0,31 \pm 0,07$	$2,65 \pm 0,36$
12000	$2,80 \pm 0,31$	$15,5 \pm 1,81$	$0,46 \pm 0,09$	$2,74 \pm 0,41$



Включение углерода меченого гумуса в метаболиты зеленых органов растений (за 100 % принята суммарная активность ^{14}C в данном классе веществ).

А — смесь растительной массы и меченого гумуса; Б — растения, экспонированные на меченом гумусе; I, II — углеводы; II — белки; 10 : 1 и 20 : 1 — соотношения между углеводами и белками по активности ^{14}C .

активных индикаторов в растениях обнаруживаются ароматические и алифатические фрагменты молекул гумусовых веществ. Полученные результаты свидетельствуют о возможности поступления в растения некоторой части молекул гумусовых веществ в неизменном состоянии.

Включение ^{14}C гумусовых веществ в некоторые метаболиты растений изучалось с помощью группового анализа содержания углеводов в растениях, выращенных в стерильной песчаной культуре при внесении фракции меченых гумусовых веществ с молекулярной массой 1260. Данные анализа смеси растительной массы и добавленных к ней в виде механической примеси ^{14}C гумусовых веществ служили контролем неметаболического включения гумуса в углеводы и белки растений.

В растениях в варианте с мечеными гумусовыми веществами изменилось процентное содержание ^{14}C гумусовых веществ в углеводах и белках по сравнению с контролем. При анализе опытных растений радиоактивная метка была обнаружена и в инертных формах углеводов и белков — фракции 4 и 5 (рисунок).

Полученные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности включения поступивших в растения гумусовых веществ в некоторые метаболиты растений. Наблюдается также поступление ^{14}C гумусовых веществ из почвы во мхи и травянистые растения таежного ценоза (табл. 4).

Вероятно, алифатическая часть гумусовых молекул относительно быстрее передвигается по растению и проникает в листья, а ядерные фрагменты задерживаются в проводящих тканях, которые сконцентрированы в стеблях. В корнях такого разделения (сепарации), по-видимому, не происходит, поскольку отношение бензолполикарбонновых кислот к алифатическим фрагментам приближается к соотношению подобных компонентов в исходных гумусовых соединениях.

Были найдены коэффициенты использования ячменем ядерных фрагментов меченого гумуса как отношение общей активности ароматических фрагментов в надземных органах к таковой в исходных гумусовых веществах. Для фракций с молекулярными массами 1260, 8400 и 12 000 эти коэффициенты составили соответственно $1,40 \pm 0,41$, $0,40 \pm 0,12$ и $0,15 \pm 0,04$ %.

Таким образом, методом ступенчатого окисления органических веществ в сочетании с методом радио-

Таблица 4

Поступление гумусовых веществ в надземные органы растений (мг*С на 100 мг растительной массы)

Растительность таежного ценоза	Время с момента внесения метки, дни					
	15	34	55	76	101	156
Зеленые мхи, сфагнум	1,31 $\pm 0,18$	2,84 $\pm 0,31$	5,71 $\pm 0,62$	6,22 $\pm 0,71$	6,71 $\pm 0,75$	6,43 $\pm 0,76$
Травянистые растения	—	0,31 $\pm 0,06$	0,42 $\pm 0,09$	0,9 $\pm 0,11$	1,34 $\pm 0,16$	0,92 $\pm 0,12$

Концентрация меченых гумусовых веществ в растениях в начале опыта повышалась, в дальнейшем этот показатель стабилизировался, что, очевидно, нельзя объяснить прекращением поступления гумуса в растения, так как их вегетативная масса (особенно у травянистых растений) продолжала увеличиваться. Кроме того, постоянство удельной активности растительной массы свидетельствовало о поступлении гумусовых веществ в растения, при этом, естественно, возрастала суммарная поглощенная активность.

В травянистых растениях, составляющих напочвенный покров почв подзолистого типа, 1—2 % углерода фитомассы приходится на углерод гумусовых веществ почвы, в зеленых и сфагновых мхах — 7 %. По вкладу углерода гумусовых веществ в фитомассу мхов и травянистых растений можно весьма приблизительно оценить возможный коэффициент использования гумусовых соединений из подстилки и прилегающего слоя. Если учесть, что общие запасы гумуса в органогенных горизонтах почв подзолистого типа составляют около 60 т/га, а ежегодный прирост фитомассы мхов и травянистых растений — соответственно 0,3 и 0,1 т/га [1], то для мхов углеродом гумусовых веществ почвы будет представлено около 10 % фитомассы прироста (0,035 т/га в год), для травянистых растений — около 2 % (или 0,002 т/га в год). Из этого следует, что коэффициент использования углерода гумусовых веществ почвы у мхов составляет около 0,05 %, у травянистых растений — около 0,003 %. Интенсивность поглощения гумусовых веществ из подзолистых почв у мхов в 16 раз больше, чем у травянистых растений, что обусловлено более высоким приростом фитомассы и более высоким вкладом гумусовых веществ в эту фитомассу.

По найденным значениям вклада гумусовых веществ в биомассу мхов и травянистых растений можно рассчитать их поток в растения. Исходя из прироста мхов и травянистых растений, составляющего на дерново-подзолистой почве соответственно 0,15 и 0,18 т/га в год, а на подзолистой — 0,24 и 0,09 т/га [1, 2], находим, что мхи и травянистые растения естественного лесного ценоза поглощают в первом случае соответственно около 9 и 3,6 кг гумусовых веществ на 1 га в год, в последнем — 14,4 и 1,8 кг. Таким образом, из подзолистой почвы в растения поступает больше гумусовых веществ, что связано с более мощным развитием охеса из зеленых и сфагновых мхов, чем травянистой растительности.

Заключение

В серии лабораторных и натуральных экспериментов показана возможность поглощения моховой и травянистой растительностью углерода гумусовых веществ. С возрастанием молекулярной массы этой группы веществ интенсивность их поглощения растениями снижается, причем основная часть поступившего углерода локализуется в корнях. Общий коэффициент поступления в травянистые растения гумусовых веществ из почв подзолистого типа за вегетацию не превышает 0,003 %, в мхи — 0,05 %.

Методом ступенчатого окисления растительных тканей доказано поступление в корни, стебли и листья ячменя ароматических фрагментов гумусовых веществ. Основная масса поступивших в надземные органы растений ароматических фрагментов локализуется в проводящих тканях, что подтверждается соответствующим распределением метки (^{14}C).

Показано включение углерода гумусовых веществ в углеводные и белковые метаболиты ячменя.

Поступившие в растения гумусовые вещества частично используются ими в качестве энергетического материала, о чем можно судить по окислению их до двуокиси углерода (расход на окисление гумусовых веществ, поступивших в растения, составляет около 1 %).

ЛИТЕРАТУРА

1. Вальтер Г. Растительность земного шара. Т. 2. Леса умеренной зоны. М.: Прогресс, 1974.
2. Гришина А. А. Биогеохимический цикл углерода. — В кн.: Биогеохимические циклы в биосфере. М.: Наука, 1976, с. 183—189.
3. Ибрагимов К. Ш., Фокин А. Д. Поступление в растения индивидуальных органических веществ в условиях естественного лесного ценоза на почвах подзолистого типа. — Изв. ТСХА, 1984, вып. 4, 71—76.
4. Механизм действия антибиотиков / Под ред. Г. Ф. Гаузе. М.: Мир, 1969.
5. Орлов Д. С., Гришина Л. А. Практикум по химии гумуса. М.: Изд-во МГУ, 1981.
6. Плешков Б. П. Практикум по биохимии. М.: Колос, 1976.
7. Рачинский В. В. Курсы основ атомной техники в сельском хозяйстве. М.: Атомиздат, 1978.
8. Фокин А. Д. Исследование процессов трансформации, взаимодействия и переноса органических веществ, железа и фосфора в подзолистой почве. — Автореф. докт. дис. М., 1975.
9. Фокин А. Д., Ибрагимов К. Ш. Поступление органических веществ в растения из растительных остатков, разлагающихся в подзолистой и дерново-подзолистой почвах. — Изв. ТСХА, 1983, вып. 6, 74—80.
10. Чичагова О. А., Черкинский А. Е. Радиоуглеродные исследования органического вещества и возраста почв. — Науч. докл. высш. шк. Биол. науки, 1979, № 8, с. 5—18.
11. Schnitzer M., Desjardins J. G. — Ganad. J. Soil Sci., 1969, vol. 49, N 1, p. 151—159.

Статья поступила 11 марта 1985 г.

SUMMARY

Possibility of absorbing carbon from humic substances by mosses and grasses of the forest cenosis is shown in a series of laboratory and natural experiments. With the increase in molecular mass of this group of substances the intensity of their absorption by plants decreases. The bulk of absorbed carbon is localized in the roots. The total coefficient of absorbing humic substances from the soils of podzolic type during one vegetation cycle does not exceed 0,003 % for grasses and 0,05 % for mosses.

Method of gradual oxidation of plant tissue has shown that roots, stems and leaves of barley absorb nuclear (aromatic) fragments of humic substances. Humic substances in the plants are partly used as energy material which is proved by their oxidation up to CO₂ (the expenditure of humic substances for oxidation is 1 %).

Carbon of humic substances is included into carbohydrate and protein metabolites of barley.