

ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ПРОЦЕСС ПРОРАСТАНИЯ И АКТИВНОСТЬ АМИЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ СЕМЯН PHACELIA TANACETIFOLIA BENTH

Неверова О. А.¹, Егорова И. Н.¹, Жеребцов С. И.², Исмагилов З. Р.²

¹Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово, Россия (650065, Кемерово, пр. Ленинградский, 10), e-mail: biomonitring@bk.ru

²Институт углехимии и химического материаловедения СО РАН, г. Кемерово, Россия (650065, Кемерово, Советский проспект, 18), e-mail: icms@icms.kemsc.ru

Исследовано влияние различных концентраций гуминовых препаратов Na и K, полученных из бурого угля рядового и его естественно окисленной формы – сажистого Кайчакского месторождения Канско-Ачинского бассейна, пласт Итатский на процесс прорастания семян и активность амилолитического комплекса в семенах *Phacelia tanacetifolia* Benth. в лабораторных условиях. Выявлено стимулирование прорастания семян под действием гуматов Na и K, полученных из рядового бурого угля (Hum Na_r, Hum K_r) в диапазоне концентраций 0,005–0,015 % – массовая всхожесть семян фацелии пижмолистной выявлялась на 4 сутки с максимумом для Hum Na_r – при 0,001 %, Hum K_r – при 0,005 %. Выявленная достоверная положительная корреляционная связь между показателями всхожести семян и амилолитической активностью 4-х дневных протков *Phacelia tanacetifolia* Benth. при действии гуминовых препаратов, полученных из рядовых углей в диапазоне концентраций 0,001–0,015 % ($r=0,81$, $n=1800$, $p<0,05$), подтверждает факт существенного влияния активности амилолитического комплекса на процесс прорастания семян.

Ключевые слова: гуматы, бурые угли, проростки, семена, всхожесть, амилолитические ферменты, *Phacelia tanacetifolia* Benth.

THE IMPACT OF HUMIC PREPARATIONS ON THE PROCESS OF GERMINATION AND THE ACTIVITY OF AMYLOLYTIC ENZYMES OF SEEDS OF PHACELIA TANACETIFOLIA BENTH

Neverova O. A.¹, Egorova I. N.¹, Zherebtsov S. I.², Ismagilov Z. R.²

¹Institute of human ecology of the SB RAS, Kemerovo, Russia (650065, Kemerovo, PR. Leningrad, 10), e-mail: biomonitring@bk.ru

²Institute of coal chemistry and chemical materials science of RAS, Kemerovo, Russia (650065, Kemerovo, Sovetsky Prospekt, 18), e-mail: icms@icms.kemsc.ru

The influence of different concentrations of humic drugs of Na and K, obtained from run-of-mine brown coal and its naturally oxidized form of soot Kaychaksky deposits of Kansk-Achinsky basin (the layer Itaysky) was investigated on the process of germination of seeds and the activity of the amylolytic complex in the seeds of *Phacelia tanacetifolia* Benth. The stimulation of seed germination was found under the influence of Na and K humates received from the run-of-mine brown coal (Hum Na_r, Hum K_r) in the range of concentrations 0,005–0,015 % – the mass germination of seeds of *Phacelia tanacetifolia* Benth. was on the 4th day of the maximum for Hum Na_r – at 0.001 %, Hum K_r – at 0.005 percent. Revealed significant positive correlation between the indicators of germination of seeds and amylolytic activity of 4-days seedlings of *Phacelia tanacetifolia* Benth. under the action of humic preparations obtained from run-of-mine coal in the range of concentrations of 0.001 - 0,015% ($r=0,81$, $n=1800$, $p<0.05$) confirms the fact of a material impact activity of amylolytic starchsplitting complex on the process of germination of seeds.

Key words: humates, brown coals, seedlings, seeds, germination, amylolytic enzymes, *Phacelia tanacetifolia* Benth.

Введение

Прорастание семян является одним из важнейших этапов онтогенеза растения. Интенсивность физиологических процессов, протекающих в прорастающих семенах, зависит от активности их ферментативного комплекса и условий окружающей среды [3, 6]. Многочисленными исследованиями установлено стимулирующее действие гуматов на рост и

развитие растений. Гуминовые соединения довольно быстро включаются в процессы метаболизма растений на клеточном уровне и активизируют их обмен веществ; в результате ускоряется развитие корневой системы, повышается устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды, усиливается синтез хлорофилла и повышается биологическая продуктивность растений [7, 8]. Особенно это важно при выращивании растений на техногенно нарушенных землях, где часто наблюдается процесс торможения прорастания семян, замедляется рост корня, ингибирование активности некоторых ферментов [1, 4, 5].

Исследователями установлено, что эффективность стимулирующего и адаптогенного влияния гуминовых веществ зависит от их природы и концентрации, а также от видовой и сортовой чувствительности растений. Поэтому сопоставление результатов различных ученых затруднительно [5, 8]. В последние годы фацелия пижмолистная (*Phacelia tanacetifolia Benth.*) широко используется как сидерант, в том числе и при рекультивации нарушенных земель [10].

Цель настоящей работы – исследование влияния различных концентраций гуминовых препаратов Na и K, полученных из бурого угля «рядового» и его естественно окисленной формы – «сажистого», на процесс прорастания семян и активность амилолитических ферментов в семенах *Phacelia tanacetifolia Benth.* в лабораторных условиях.

Материал и методика исследования

Объектами исследования являлись семена *Phacelia tanacetifolia Benth.* [2].

Материалом для работы служили гуминовые препараты изготовленные из двух типов бурых углей: типичного бурого угля группы Б2 («рядовой») Кайчакского месторождения Канско-Ачинского бассейна, пласт Итатский основной (КБР) и естественно-окисленной формы данного угля, называемой далее «сажистый» (КБС), являющимся отходом угледобычи.

Исходный уголь КБР в сравнении с КБС характеризуется большей алифатичностью и меньшей ароматичностью, что отражается на характере полученных препаратов гуминовых кислот: образцы Num K_c и Num Na_c более окислены, чем таковые из рядового и содержат большее число карбонильных и карбоксильных групп, обладают большей степенью восстановленности и большей ароматичностью, но меньшим отношением карбоксильных групп к гидроксильным. В их структурах преимущественно содержатся ароматические группировки и фенолы и в меньшем количестве содержатся окисленные алифатические соединения. Содержание гуминовых кислот в испытуемых исходных (концентрированных) образцах, представлено в таблице 1.

Таблица 1

Исходные образцы гуматов Na и K

Образец	Количество, л	Фактическое содержание гуминовых кислот, г/л	Выход гуминовых кислот, % (масс.) от исходного угля
Hum K _p	9,5	35,00	9,10
Hum Na _p	10	34,05	9,31
Hum K _c	16,3	196,8	79,38
Hum Na _c	16,5	193,8	78,81

Из концентрированных образцов гуматов (табл. 1) готовили испытуемые растворы в концентрациях: 0,001 %, 0,002 %, 0,005 %, 0,01 %, 0,015 %, 0,02 %.

Исследования проведены в лабораторных нестерильных условиях. По 100 семян проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной исследуемыми растворами Hum Na_p, Hum K_p, Hum Na_c и Hum K_c при температуре +15 С°, в темноте. Контролем служили семена, проращиваемые на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой. Повторность опытов трехкратная.

Суммарную амилолитическую активность оценивали спектрофотометрическим методом по количеству расщепленного крахмала [9]. Активность ферментов выражали в мг гидролизованного крахмала за 1 час в 1 мл ферментного препарата.

Обработка экспериментальных данных проведена с использованием программы «Statsoft Statistica for Windows 6.0».

Результаты исследований

Результатами исследований установлено, что в опытном варианте массовая всхожесть семян фацелии пижмолистной отмечалась на 9 сутки (89 шт.). Применение гуминовых препаратов оказало различное действие на процесс прорастания семян фацелии пижмолистной. В частности гуматы калия и натрия, полученные из рядовых углей (Hum Na_p, Hum K_p) в диапазоне концентраций 0,005–0,015 % стимулировали прорастание семян – массовая всхожесть отмечалась уже на 4 сутки. При этом максимальный стимулирующий эффект наблюдался при различных концентрациях гуматов: Hum Na_p – при 0,001 % (проросло 86,9 шт. семян), Hum K_p – при 0,005 % (проросло 92,8 шт. семян), в контроле – 42,3 шт. (рис. 1, 2).

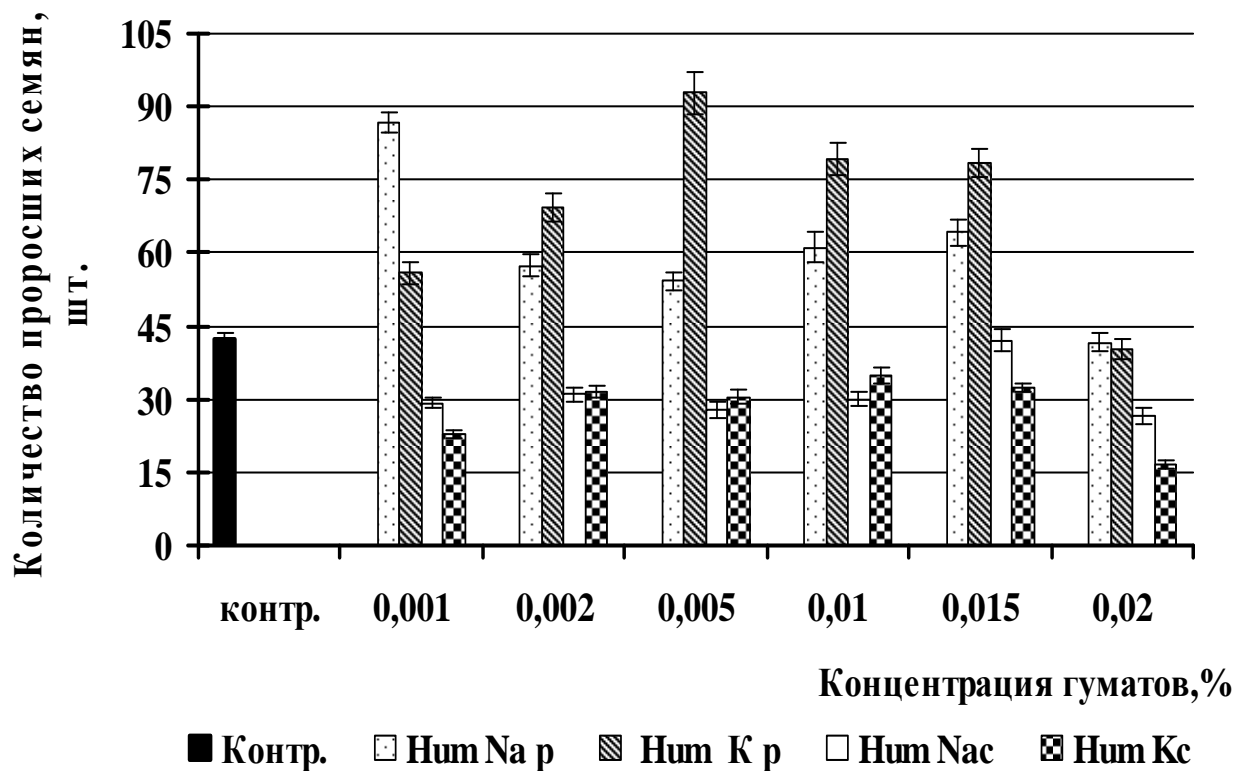


Рис. 1. Всхожесть семян *Phacelia tanacetifolia* Benth. при действии различных концентраций гуминовых препаратов на (4 сутки)

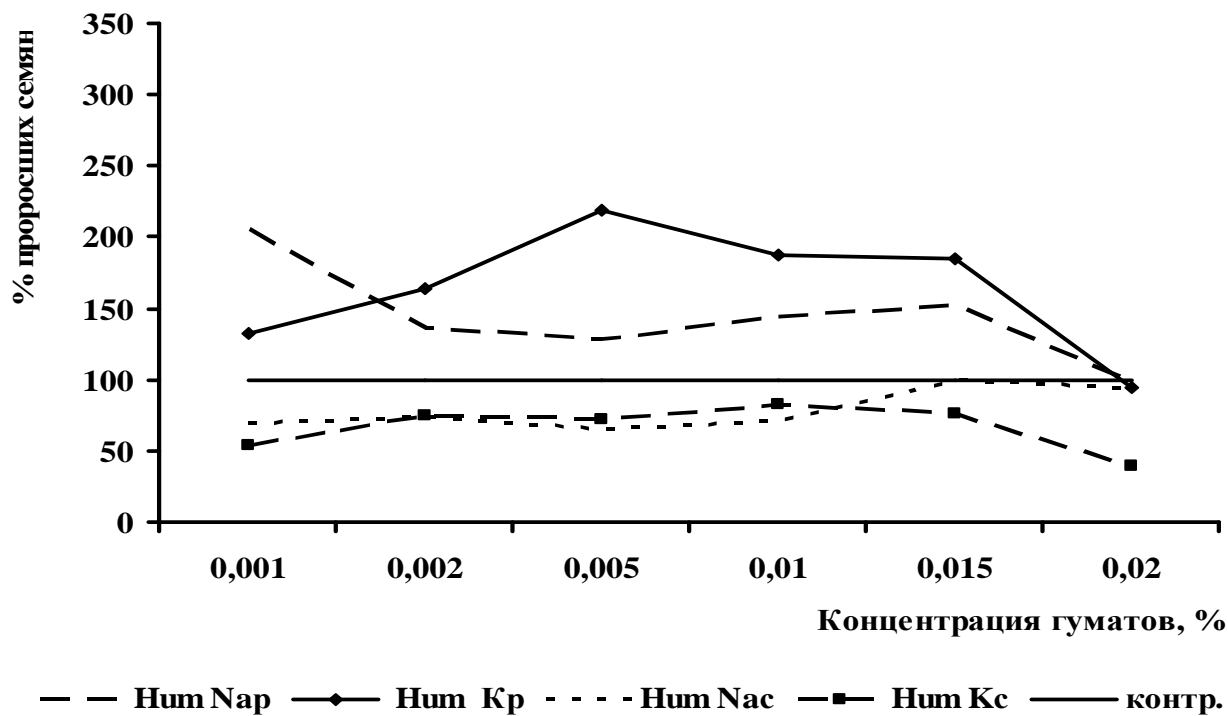


Рис. 2. Количество проросших семян *Phacelia tanacetifolia* Benth. относительно контроля

Как показывают результаты исследований, наибольшей эффективностью характеризуются Hum K_p в концентрации 0,005 % – максимальная всхожесть семян фацелии пижмолистной отмечается на 4 сутки и превосходит контроль на 119,4 % (рис. 2). Концентрация гуматов – 0,02 %, полученных из рядовых углей, не оказала стимулирующего влияния на прорастание семян *Phacelia tanacetifolia* Benth. (количество проросших семян – 40,2 и 41,7 шт. соответственно, в контроле – 42,3 шт.).

Интересно отметить, что гуминовые препараты, полученные из сажистых углей (Hum Na_c и Hum K_c), напротив, ингибировали процесс прорастания семян *Phacelia tanacetifolia* Benth. при всех исследуемых концентрациях: количество проросших семян варьировало в пределах 16,7...42,1 шт. с минимумом при действии Hum K_c в концентрации 0,02 % (рис. 1, 2).

Результаты активности комплекса амилолитических ферментов у 4-х суточных проростков фацелии пижмолистной при действии гуминовых препаратов в целом согласуются с данными по количеству проросших семян (табл. 2). В частности стимуляция амилолитической активности у проростков отмечена при действии гуматов, полученных из рядовых углей, в диапазоне концентраций 0,001–0,015 % (табл. 2). При этом максимальная ферментативная активность наблюдается при действии Hum Na_p в концентрации 0,001 %, Hum K_p – в концентрации 0,005 % (выше контроля на 140...193 %).

Таблица 2

Средние показатели общей амилазной активности семян *Phacelia tanacetifolia* Benth.

в опытах с гуматами

Концентрация гуматов	Общая амилазная активность (мг гидролизованного крахмала на мл ферментативного р-ра)			
	Hum Na _p	Hum K _p	Hum Na _c	Hum K _c
0,001	0,036±0,001	0,033±0,004	0,012±0,001	0,011±0,0007
0,002	0,022±0,002	0,035±0,005	0,016±0,001	0,013±0,001
0,005	0,018±0,001	0,044±0,004	0,012±0,001	0,012±0,0006
0,01	0,027±0,003	0,041±0,003	0,010±0,0005	0,016±0,001
0,015	0,024±0,001	0,036±0,002	0,017±0,002	0,015±0,0007
0,02	0,010±0,001	0,012±0,002	0,011±0,001	0,006±0,0004
Контр. (H ₂ O)	0,015±0,001			

Действие гуминовых препаратов, полученных из сажистых углей (Hum Na_c и Hum K_c), существенно не повлияло на амилолитическую активность в сравнении с контролем в диапазоне концентраций 0,005–0,015 %. Концентрация гуматов – 0,02 % во всех вариантах опыта снижала ферментативную активность в сравнении с контролем на 33...60 % с максимумом при действии HumK_c (табл. 2).

В литературе имеются сведения о влиянии гуминовых веществ на активность ферментов в прорастающих семенах [5, 6]. В частности И. Н. Иващенко (2010) обнаружено стимулирующее действие гуматов на процесс прорастания семян озимой пшеницы и активность амилолитических ферментов.

Выявлена достоверная положительная корреляционная связь между показателями всхожести семян и амилолитической активностью 4-х дневных протков *Phacelia tanacetifolia* Benth. при действии гуминовых препаратов, полученных из рядовых углей в диапазоне концентраций 0,001–0,015 % ($r=0,81$, $n=1800$, $p<0,05$). Это подтверждает факт существенного влияния активности амилолитического комплекса на процесс прорастания семян.

Заключение

Результатами исследований установлено стимулирующее действие гуминовых препаратов, полученных из рядового бурого угля Кайчакского месторождения Канско-Ачинского бассейна, пласт Итатский основной (Hum Na_p, Hum K_p) в диапазоне концентраций 0,005–0,015 % на процесс прорастания семян фацелии пижмолистной – массовая всхожесть отмечалась на 4 сутки с максимумом для Hum Na_p – при 0,001 %, Hum K_p – при 0,005 %.

Установлено, что наибольшей эффективностью характеризуются Hum K_p в концентрации 0,005 % – максимальная всхожесть семян фацелии пижмолистной отмечается на 4 сутки и превосходит контроль на 119,4 %.

Гуминовые препараты, полученные из сажистых углей (Hum Na_c и Hum K_c) ингибировали процесс прорастания семян *Phacelia tanacetifolia* Benth. при всех исследуемых концентрациях

Выявленная достоверная положительная корреляционная связь между показателями всхожести семян и амилолитической активностью 4-х дневных протков *Phacelia tanacetifolia* Benth. при действии гуминовых препаратов, полученных из рядовых углей в диапазоне концентраций 0,001–0,015 % ($r=0,81$, $n=1800$, $p<0,05$), подтверждает факт существенного влияния активности амилолитического комплекса на процесс прорастания семян.

Список литературы

1. Бутюгин А. В., Зубкова Ю. Н., Антонова А. Л., Гнеденко М. В., Рыктор И. А., Узденников Н. Б. Применение гуминовых препаратов в критических экологических условиях Донбасса // Гуминовые вещества в биосфере: Тр. 5-й Всерос. конф. [под ред. Б. Ф. Апарина]. – СПб: Изд-во СПбГУ, 2010. – Ч. 1. – С. 386–392.

2. ГОСТ 52325-2005. Семена сельскохозяйственных растений. Сортовые и посевные качества. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2005. – 23 с.
3. Дарканбаев Г. Б., Фурсов О. В. Амилазы зерновых и регуляция их активности // Успехи биол. химии. – 1982. – Т. 22. – С. 137–148.
4. Жеребцов С. И., Исмагилов З. Р., Неверова О. А., Корниасова Н. А., Соколов Д. А. Гуминовые вещества бурых углей и перспективы их применения в рекультивации // Разработка комплекса технологий рекультивации техногенных земель: сб. науч.-метод. материалов Всерос. науч. конф. (Кемерово, 10–12 нояб. 2011 г.). – Кемерово, 2011. – С. 20–23.
5. Зубкова Ю. Н., Рыктор И. А., Антонова А. Л. Влияние гуминовых препаратов на растения и возможные пути их практического применения // Вісник Донецького університету. Серія А. Природничі науки. – 2009. – Вып. 2. – С. 225–231.
6. Иващенко И. Н. Влияние регуляторов роста на устойчивость к стрессовым факторам, урожайность и качество зерна озимой пшеницы на черноземе выщелоченном: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Ставрополь, 2010. – 21 с.
7. Лебедева А. С., Веселов А. П., Александрова И. Ф. Амилолиз в прорастающих зерновках пшеницы под действием теплового шока и экзогенной гибберелловой кислоты // Динамика современной науки: материалы V Междунар. науч.-практич. конф. – София, 2009. – С. 23–26.
8. Неверова О. А., Егорова И. Н., Жеребцов С. И., Исмагилов З. Р. Сравнительный анализ влияния гуминовых препаратов Na и K на процесс прорастания семян *Sinapis alba* L. // Проблемы промышленной ботаники индустриально развитых регионов: материалы 111 междунар. конф. – Кемерово, 2012. – С. 117–119.
9. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. – М.: Колос, 1976. – 255 с.
10. Титов В. Н., Мамонов А. Н. Роль донника и фацелии в экологизации земледелия засушливых левобережных районов Саратовской области // Кормопроизводство. – 2011. – № 1. – С. 6–8.

Рецензенты:

Кондратенко Екатерина Петровна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, профессор кафедры технологии хранения и переработки сельскохозяйственной продукции ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт», г. Кемерово.

Блинова Светлана Викторовна, доктор биологических наук, доцент кафедры зоологии и экологии ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово.