

Торф и продукты его переработки

УДК 543.544:581.48

БИОСТИМУЛИРУЮЩИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГУМАТА НАТРИЯ

© *Е.П. Кондратенко¹, А.С. Сухих^{2*}, Н.В. Вербицкая¹, О.М. Соболева¹*

¹ Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт,
ул. Марковцева, 5, Кемерово, 650056 (Россия)

² Кемеровская государственная медицинская академия Министерства
здравоохранения России, ул. Ворошилова, 22а, Кемерово, 650029 (Россия),
e-mail: meer@yandex.ru

Комплексом современных спектральных методов анализа (ИК-, ЯМР C^{13}) проведена сравнительная физико-химическая и биологическая характеристика гуминовой кислоты препарата гумата натрия Aldrich (Германия). Стимуляция прорастания изучена на семенах яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Изменение витальных показателей и линейно-весовых характеристик семян пшеницы зависит от концентрации раствора гуминовой кислоты. Обработка семян 0,001% раствором гуминовой кислоты увеличивает рост и развитие корневой системы проростков на 43,9% относительно контроля.

По данным ЯМР, по ядрам углерода C^{13} выявлена взаимосвязь стимулирующих свойств гуминовых кислот с содержанием ароматических структур.

При обработке семян пшеницы растворами гумата натрия концентрации от 0,01 до 0,0001% выявлена различающаяся степень активации энергетического потенциала в проростках, связанного с пулом макроэргических соединений. Методом ИК-спектроскопии установлено выраженное влияние раствора гуминовой кислоты низкой концентрации на структурно-тканевую уровень корневой системы. Хроматографией с использованием сефадекса LH-20 выявлено, что выраженное стимулирующее влияние на прорастание семян оказывают фракции гуминовых кислот с молекулярной массой около 1000 Da. Эти фракции на границе раздела фаз, при участии оболочки зерна, запускают каскад окислительно-восстановительных процессов, в которых гуминовые кислоты выполняют роль индуктора.

Ключевые слова: гумат натрия, ИК-спектроскопия, ядерный магнитный резонанс, сефадекс LH-20, биостимулятор.

Введение

Гуминовые кислоты (ГК) – это самые распространенные на земной поверхности высокомолекулярные оксикарбоновые кислоты переменного состава с интенсивной темно-бурой или красновато-бурой окраской. Их выделяют растворами щелочей из почвы, углей, морской и пресной воды, торфа, сапропелей и других объектов. Гуминовые вещества (ГВ) играют важную роль в почвенном плодородии и питании растений. Растения, выращенные на почве, содержащей достаточное количество гуминовых веществ,

Кондратенко Екатерина Петровна – доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры технологии хранения и переработки сельскохозяйственной продукции,
e-mail: meer@yandex.ru

Сухих Андрей Сергеевич – старший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, кандидат фармацевтических наук, доцент,
e-mail: meer@yandex.ru

Вербицкая Наталья Валерьевна – аспирант,
e-mail: meer@yandex.ru

Соболева Ольга Михайловна – кандидат биологических наук, доцент кафедры технологии хранения и переработки сельскохозяйственной продукции,
e-mail: meer@yandex.ru

меньше подвержены стрессам, дают более высокие урожаи, при этом качество получаемой продукции значительно выше [1, 2]. К наиболее изученным процессам, в которых участвуют гуминовые вещества, относятся их способность взаимодействовать с катионами металлов и возможность влияния на корневую систему растений, что приводит к увеличению их биомассы и повышению урожайности [3–5]. Установлено, что ГК, независимо от источника выделения, имеют гидрофобные и гидрофильные области, и разрыв в структуре может привести к вы-

* Автор, с которым следует вести переписку.

свобождению гидрофильных компонентов, структурно сходных с ауксинами [6]. В результате проведенных исследований авторы установили, что действие гуминовых веществ, проявляющееся в стимулировании роста корней, связано с содержанием гидрофильных кислородосодержащих алкильных, метоксильных, азотосодержащих алкильных функциональных групп.

Другие исследователи указывают на наличие гормоноподобной активности ГВ, связанной с азотсодержащими компонентами, проявляющими действие подобно ауксинам и полиаминам [7, 8]. Учитывая важность гуминовых веществ в биосфере, исследования, направленные на установление строения гуминовых веществ, имеют фундаментальное значение для сельского хозяйства, экологии, геохимии и специальных областей химии, биологии и медицины.

Важность этих исследований для сельского хозяйства и медицины состоит в том, чтобы научиться предсказывать свойства и физиологическую активность ГК, полученных из различных источников. В настоящее время существуют десятки промышленно выпускаемых удобрений на основе ГК, выделяемых из различного природного сырья – в основном угля и торфа. Физиологическая активность этих удобрений определяется эмпирически на основе полевых испытаний, это существенно замедляет процесс разработки новых эффективных препаратов.

Для того чтобы предсказывать химические свойства получаемых ГК и применять эти вещества в качестве сорбентов, ПАВ и т.п., также необходимо знать принципы их химического строения.

В основе синтеза гумусовых веществ лежит отбор структур, которые в условиях биосферы, главным образом в корнеобитаемых слоях почвы, способны приобрести устойчивые свойства и создать необходимые экологические условия для обитания растений и почвонасеяющих микроорганизмов. Сложность механизмов образования гумусовых веществ и зависимость их свойств от окружающих условий обуславливает не только многообразие структур, но и существенно ограничивает применимость стандартных химических и физико-химических методов анализа для их исследования.

ИК-спектроскопия является весьма информативным методом исследования строения индивидуальных органических соединений. Спектральные свойства ГВ являются важными диагностическими показателями [9, 10]. Главным достоинством спектральных методов анализа (ИК, ЯМР) является возможность изучения атомных групп и типов связей без нарушения состава с учетом влияния молекулярных ансамблей. Спектроскопия в инфракрасной области позволяет также исследовать механизмы органоминерального взаимодействия, определяя особенности индивидуального соединения ГК [11, 12].

В настоящее время биостимулирующие свойства гуминовых кислот и гуминоподобных веществ вызывают значительный интерес в области биохимии растений. Современные исследования ярко демонстрируют увеличение продуктивности растительных объектов при обработке их гуминовыми кислотами и гуминоподобными веществами. Однако биохимические процессы, происходящие в растении под влиянием ГК, в настоящее время изучены недостаточно. В этой связи целью исследований явилось изучение взаимосвязи физико-химических свойств гуминовой кислоты с ростостимулирующими эффектами на семена пшеницы.

Экспериментальная часть

В работе использовался коммерческий препарат гумата натрия (ГМН) производства фирмы «Aldrich» (Германия). Использованный образец ГМН представляет собой мелкодисперсный порошок черного цвета, хорошо растворимый в воде и водных растворах щелочей, практически не растворим в широком диапазоне органических растворителей (этанол, диэтиловый эфир, трихлорметан, гексан) и кислотах. Препарат ГМН содержит молекулы массой 1, 3–6 и 15 кДа [13]. По данным ИК-спектроскопии, образец характеризуют следующие полосы поглощения, с частотами: 1576 (с.), 1448 (ср.), 1398 (ср.), 1387 (ср.), 1109 (сл.) 1046, 1034 см^{-1} .

Хроматографию водного раствора ГК проводили на сефадексе LH-20 («Sigma-Aldrich»), в режиме водной элюции, собирая высокомолекулярную фракцию, по условиям, приведенным в работе [14].

Спектральные исследования выполняли на однолучевом интерференционном (с обратным преобразованием Фурье) ИК-спектрометре ФСМ-1202 («Инфраспек», Россия). Образцы, поступившие на анализ, высушены в вакууме при температуре 55 °С. Для получения спектров исследуемых образцов на ИК-спектрометре вначале проводили подготовку проб, которая заключалась в изготовлении пресс-таблеток образца с KBr («Fluka», Германия), масса навески 2 мг, KBr – 200 мг, диски готовили под давлением

3000 psi. Параметры записи спектров: диапазон длин волн – 4000–400 см⁻¹, разрешение – 4 см⁻¹, циклическая запись с количеством сканов – 25. Фоновый спектр (воздух) получали непосредственно перед записью каждого спектра. Управление прибором и обработку спектров осуществляли с использованием программы Fspec (версия 4.0.0.2).

Спектры ЯМР по ядрам углерода C¹³ получены на спектрометре DRX-500 («Bruker», Германия). Навеску образцов ГК массой 50 мг растворяли в 0,5 мл 0,5 М раствора NaOH/D₂O. Запись в режиме INVGATE и обработка спектров осуществлены с использованием программного обеспечения WINNMR («Bruker»).

Для изучения действия различных концентраций препарата гумата натрия на прорастание семян пшеницы был проведен эксперимент по определению витальных (энергия прорастания, всхожесть) и морфобиологических показателей (длина и масса ростков, корней). Энергия прорастания семян пшеницы определялась на 3-й день, всхожесть на – 7-й, масса – на 12-й день.

На фоне контроля (без обработки) изучали три варианта опыта с обработкой семян яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Используемая концентрация растворов ГК определена известными данными, наличия областей концентраций с наибольшей физиологической активностью для стимулирования роста пшеницы [15]. Семена предварительно замачивали в 10 мл растворов различных концентраций ГК (0,01, 0,001 и 0,0001%) в течение 12 ч и в дистиллированной воде для контроля. Повторность опытов – 4-кратная. В каждой повторности – по 50 семян. После замачивания семена помещали на смоченную дистиллированной водой фильтровальную бумагу в чашки Петри, после чего чашки прикрывали крышками и помещали в термостат при температуре 18–20 °С. Через трое суток проращивания образцы были разделены на анатомические части: оболочки, эндосперм, корни, ростки и проанализированы в режиме ИК-спектроскопии.

Анализы проведены в лаборатории ЦНИЛ ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» и на кафедре технологии хранения и переработки сельскохозяйственной продукции ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт».

Результаты и обсуждение

Применение гумата натрия способствовало повышению энергии прорастания семян пшеницы. Максимальное увеличение энергии прорастания наблюдалось в вариантах при концентрации 0,001 и 0,0001%, где разница с контролем составляла 8 и 4% соответственно. При концентрации ГК 0,001% энергия прорастания семян была достоверно выше контроля на 11% (табл.). Таким образом, присутствие ГК в питательной среде способствовало усилению процессов, связанных с прорастанием семян.

Под действием гумата натрия при концентрации 0,01–0,0001% лабораторная всхожесть семян в среднем превышала контроль на 3,3%. В варианте при концентрации ГК 0,001% лабораторная всхожесть была максимальной и составила 81%, что превысило контроль на 9%. Проведенные исследования указывают на активацию процессов, связанных с ростом проростков пшеницы.

Масса надземной части проростков пшеницы опытных вариантов при концентрации 0,001 и 0,0001% в среднем была выше контроля на 10%, однако масса корней значительно превышала контроль, в среднем на 25,6%, максимально – на 43,9% (при концентрации гуминовых кислот 0,001%). Проростки при более низких концентрациях ГК визуальнo развивались нормально, цвет их был характерен для данного типа растений.

Таким образом, ГК при низкой концентрации (0,001%) обладают энергетическим потенциалом для активации метаболических клеточных процессов растений.

Изменение энергии прорастания, всхожести и линейно-весовых характеристик семян пшеницы в зависимости от концентрации гумата натрия

Вариант	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Длина ростка, см	Масса надземной части проростков, г	Масса корней, г
Контроль	72±3,60	72±4,32	17,8±2,08	0,93±0,045	0,41±0,026
0,01%	70±4,32	74±2,52	17,5±2,13	0,95±0,050	0,48±0,035
0,001%	80±2,58	81±2,83	19,1±1,23	1,05±0,032	0,59±0,045
0,0001%	76±4,43	78±5,66	18,7±1,47	1,01±0,029	0,44±0,043

Структуру гумата натрия исследовали методами ИК-, ЯМР C^{13} -спектроскопии. В настоящее время известно, что информация, получаемая при анализе ИК-спектров гуминовых веществ, обычно содержит данные, позволяющие установить основные функциональные группы, при этом ИК-спектроскопия с Фурье преобразованием позволяет делать также количественные оценки [11, 12]. Исходя из этого, методом ИК-спектроскопии проанализирован изучаемый образец ГК, а также морфологические образования проростков пшеницы. Для нативного образца гумата натрия Aldrich максимум полосы поглощения приходится на волновое число 1579 см^{-1} и соответствует валентным колебаниям С-С ароматических фрагментов (рис. 1). Исходя из известных литературных данных препарат ГК Aldrich содержит молекулы 1, 3–6, и 15кДа [13]. После хроматографирования в условиях сефадекса LH-20 (хроматограмма представлена на рисунке 2), у выделенной высокомолекулярной фракции, собранной в узком интервале объемов 10–13 мл, отмечается смещение максимума поглощения – 1607 см^{-1} , а также появляется полоса 1708 см^{-1} . Известно, что сефадекс LH-20 обладает адсорбционными свойствами в отношении фенольных соединений [16]. Эта характеристика активно используется в фитохимии, а также в химии гуминовых и гуминоподобных веществ [14, 16].

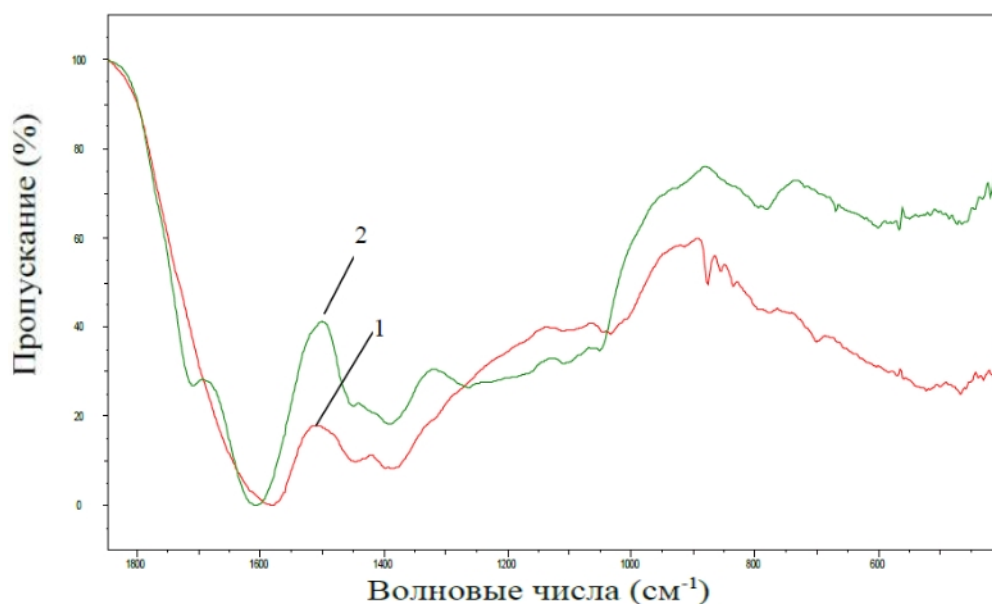


Рис. 1. ИК-спектр в диапазоне $1800\text{--}400\text{ см}^{-1}$ гумата натрия Aldrich натив (1), после хроматографирования на сефадексе LH-20 (2)

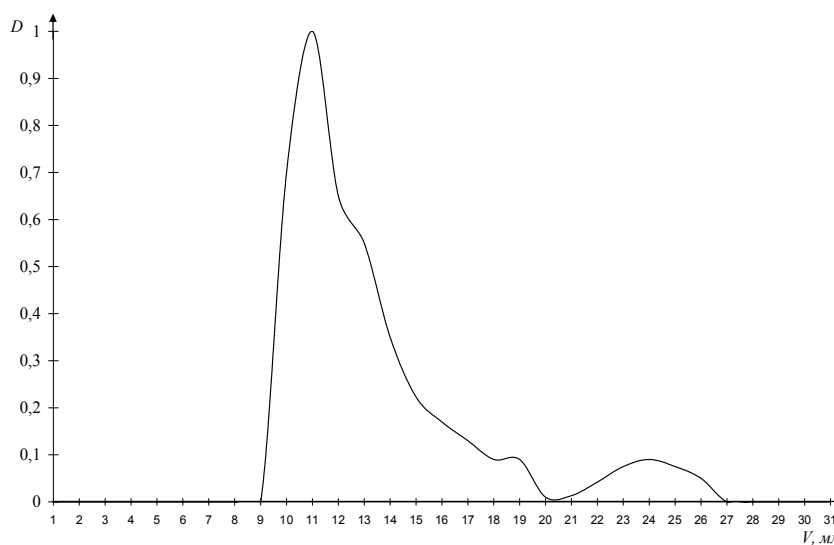


Рис. 2. Хроматограмма гумата натрия Aldrich на сефадексе LH-20 в режиме водной элюции

Полосы поглощения 1446 и 1389 см⁻¹, обусловленные плоскостными деформационными колебаниями группы О-Н, взаимодействующей с вверными колебаниями С-Н в первичных и вторичных спиртовых группах, обнаруживаются у нативного образца ГК. Отличия от хроматографической фракции обнаруживаются в так называемой «полисахаридной» области (1170–950 см⁻¹). Так, у нативного образца ГК зафиксированы две полосы слабой интенсивности – 1046 и 1033 см⁻¹. После LH-20 в ИК-спектре присутствует одна полоса с максимумом поглощения 1050 см⁻¹. В дополнение к этому только у нативного образца обнаруживается полоса средней интенсивности 875 см⁻¹, характерная для пентазамещеных ароматических структур и многоядерных углеводов, исчезающая после хроматографирования.

В свою очередь спектр ЯМР исследуемых образцов ГК (рис. 3а, рис. 3б) характеризует следующие особенности. Так, в зоне углерода алифатических структур 0–50 м.д. обозначено два максимума 32,34 м.д., приписываемых к метиленовым группам в длинноцепочечных жирных кислотах, и сигнал 37,95 м.д., относящийся к алифатическим алкильным фрагментам. В зоне 50–110 м.д., соответствующей кислородсодержащим алифатическим структурам, у исследуемого образца обнаруживается максимум 55 м.д. Необходимо отметить, что у образца ГК после хроматографирования на сефадексе LH-20 изменения в первую очередь носят количественный характер. Так, незначительно уменьшается доля алифатических структур (31,5) – до 27,45%, тогда как площадь углерода в ароматических структурах после хроматографирования увеличивается (45,37) – до 48,46%. Область карбоксильного углерода 165–180 м.н. характеризуется наличием трех максимумов 168, 173, 176 м.д.

После хроматографирования рассматриваемые значения сохраняются, однако суммарное их количество снижается (6,97) – до 4,33%. Узкий пик 168 м.д. может принадлежать свободным, удаленным от ядра макромолекулы ГК карбоксильным группам, которые в нативном состоянии образца находились в анионной форме. В этой связи процесс хроматографирования вносит протонизацию соответствующих карбоксильных фрагментов. Однако наличие данного максимума может соответствовать и углероду, входящему в неорганический карбонат.

Анализ спектральных данных (ИК, ЯМР С¹³) убедительно доказывает структурные изменения ГК, происходящие в процессе хроматографирования на LH-20.

Спектральные характеристики образцов эндосперма зерновки обладают схожими качественными и количественными структурными особенностями (рис. 4). Это указывает на тот факт, что выраженные структурно-функциональные изменения под действием растворов ГК происходят в других морфологических частях проростка.

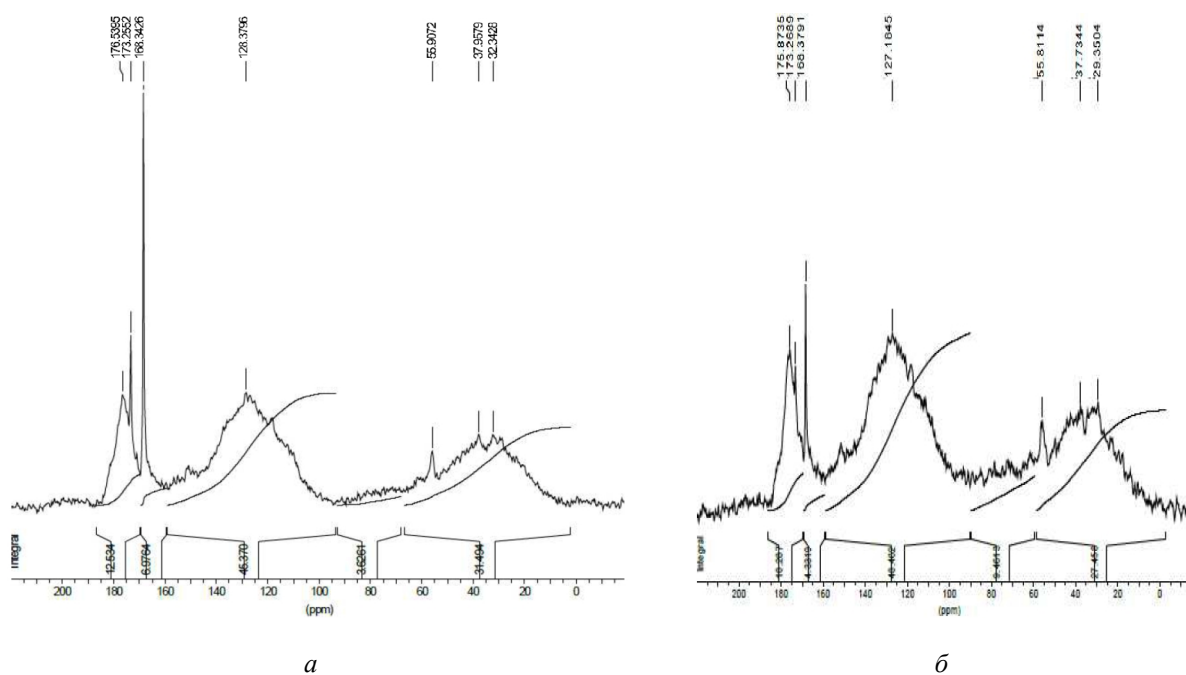


Рис. 3. Спектры ЯМР С¹³ образца гумата натрия Aldrich (а), образца гумата натрия Aldrich, хроматографированного на сефадексе LH-20 (б)

При анализе спектров оболочек зерновки (рис. 5) установлены характеристические полосы поглощения в диапазоне $1020\text{--}800\text{ см}^{-1}$, а именно 1018 , 996 , 926 , 856 см^{-1} , которые соответствуют наличию структур С-О-С или Р-О-С [17, 18].

Наличие полосы поглощения с максимумом 930 см^{-1} характеризует присутствие связей Р-О-Р [19]. Структуры с указанным типом связи присутствуют в молекулах нуклеотидфосфатов. Более высокая концентрация указанных структур обнаружена в анатомических частях проростков, обработанных гуматом натрия в концентрации $0,0001\%$. С другой стороны, для данного образца характерно уменьшение площади полосы поглощения 1418 см^{-1} , обусловленной первичными аминогруппами. На этом основании следует предположить, что при обработке семян растворами гумата натрия разной концентрации происходит различающаяся по степени активация энергетического потенциала в проростках, связанного с пулом фосфорорганических соединений. Данное предположение согласуется с изменением ИК-спектров (рис. 4, 5), где в диапазоне $630\text{--}565\text{ см}^{-1}$, обусловленном асимметричными деформационными колебаниями связи Р-О [20], происходит смещение полос поглощения.

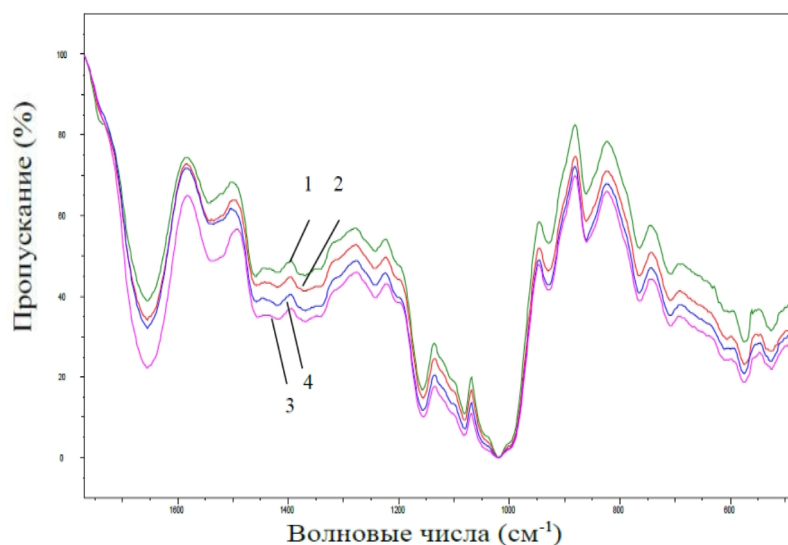


Рис. 4. ИК-спектры в диапазоне $1700\text{--}400\text{ см}^{-1}$ эндосперма зерновки пшеницы, где: (1) – контроль; (2) – после обработки раствором гумата натрия концентрацией $0,01\%$; (3) – после обработки раствором гумата натрия концентрацией $0,001\%$; (4) – после обработки раствором гумата натрия концентрацией $0,0001\%$

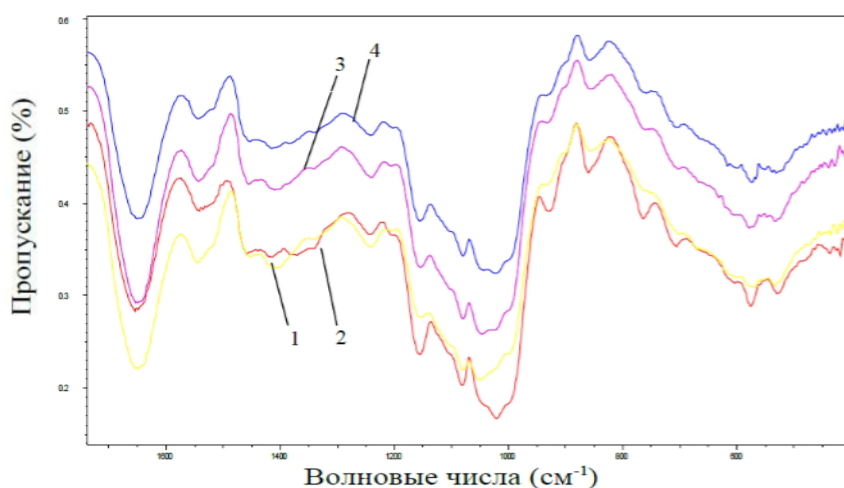


Рис. 5. ИК-спектры в диапазоне $1700\text{--}400\text{ см}^{-1}$ оболочек зерновки после обработки растворами гумата натрия, где: (1) – контроль; (2) – после обработки раствором гумата натрия концентрацией $0,0001\%$; (3) – после обработки раствором гумата натрия концентрацией $0,001\%$; (4) – после обработки раствором гумата натрия концентрацией $0,01\%$

Эти отличия особенно заметны при обработке семян раствором с концентрацией ГК 0,0001%. Поэтому увеличение качественного и количественного состава фосфорорганических соединений связано с увеличением синтеза нуклеотидов в проростках пшеницы. При этом усиливается энергетический обмен и обмен нуклеиновых кислот [21].

Особенности ИК-спектров (рис. 6) корней проростков пшеницы заключаются в следующем. Образец, подвергнутый обработке раствором ГК 0,0001%, характеризуется полосами поглощения средней интенсивности 1560 см^{-1} , 1541 см^{-1} , 1516 см^{-1} – соответствующими вторичным ациклическим амидам. Данные полосы обусловлены взаимодействием между деформационными колебаниями N-H и валентными колебаниями C-N [17]. Особенности полос поглощения в области $1560\text{--}1510\text{ см}^{-1}$, а также наличие полос слабой интенсивности 1460 см^{-1} , 1650 см^{-1} , обуславливают необходимость анализа структурных особенностей присутствующих элементарных соединений. Важной отличительной характеристикой ИК-спектров рассматриваемых образцов при обработке ГК в концентрации 0,001 и 0,0001% является наличие полосы 873 см^{-1} . Наличие полос в диапазоне $900\text{--}860\text{ см}^{-1}$ свойственно внеплоскостным деформационным колебаниям C-H в замещенных ароматических структурах (1,3-, 1,2,4-, или 1,2,3,4,5-). Необходимо отметить, что в образце нативного гумата натрия (Aldrich) присутствует полоса поглощения 875 см^{-1} .

Яркой особенностью является тот факт, что полоса поглощения около 873 см^{-1} обнаруживается в образцах, обработанных раствором гуминовой кислоты с концентрацией 0,001 и 0,0001%. В свою очередь ИК-спектр образца ГК характеризуется также наличием полосы поглощения 875 см^{-1} . Данная полоса соответствует деформационным колебаниям C-H в ди-, три- или тетразамещенных ароматических структурах [22]. После хроматографирования на сефадексе LH-20 в относительно «высокомолекулярной» фракции, элюируемой с колонки в режиме водной элюции, данная полоса отсутствует.

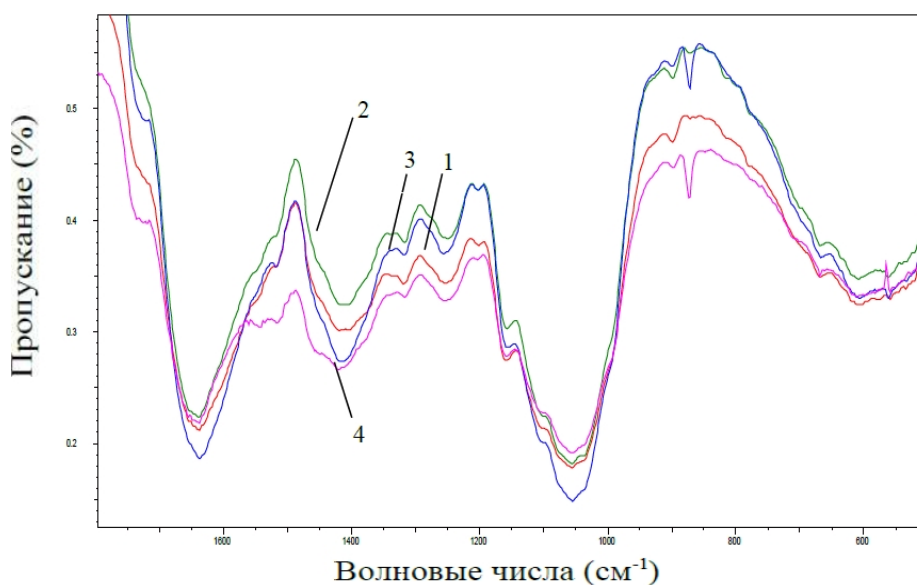


Рис. 6. ИК-спектры в диапазоне $1700\text{--}400\text{ см}^{-1}$ корней проростков, где: (1) – контроль; (2) – после обработки раствором гумата натрия концентрацией 0,01%; (3) – после обработки раствором гумата натрия концентрацией 0,001%; (4) – после обработки раствором гумата натрия концентрацией 0,0001%

Возникающий вопрос, связанный с особенностью стимулирующего действия растворов ГК с низкой концентрацией (0,001 и 0,0001%), находит объяснение с точки зрения молекулярных особенностей структуры ГК. Так, в растворах с высокой концентрацией ГК реакционные структуры молекулы участвуют в образовании межмолекулярных связей [23], поэтому ростостимулирующий эффект практически отсутствует. В сильно разбавленных растворах ГК, с концентрацией 0,001 и 0,0001%, среднее расстояние между макромолекулами увеличивается, а межмолекулярное взаимодействие ослабевает, в том числе за счет влияния уникальных свойств растворителя – воды. Поэтому разбавленные растворы ГК проявляют свойства стимуляторов за счет увеличения пространственной доступности функциональных групп, в том числе с ароматическим фрагментом. В свою очередь, необходимо учитывать влияние ассоциатов ГК с различным

молекулярным размером [24]. Данное предположение подтверждается исследованиями, отмечающими, что критическая масса мицеллообразования для ГК колеблется в диапазоне 1–10 г/дм³ [23]. По данным исследований А. Nuzzo с соавторами, ГК в водных растворах способны существовать в виде супрамолекулярных мицеллоподобных агрегатов, состоящих из относительно небольших гетерогенных фрагментов с молекулярной массой до 1000 Да [3]. Данная особенность согласуется с хроматографическими свойствами сефадекса LH-20 по разделению веществ с молекулярными массами около 1000 Да [14, 16].

В этой связи роль ГК относительно растительной клетки может определяться двумя факторами. Первый – каталитическая функция, связанная с наличием парамагнитных центров, которые являются донорами электронов. Это, в свою очередь, влияет на активность «силовых станций клеток» – митохондрий – стимулируя их работу и запуская аэробное дыхание. Второй фактор – протекторная роль ГК, связанная с заменой или дублированием растительных пигментов и/или меланинов. Одним из принципов защитной функции является, с одной стороны, наличие ароматических фрагментов в структуре ГК, с другой стороны, влияние молекулярного размера и соотношение уникальных фрагментов структуры.

Выводы

Гуминовые кислоты препарата гумата натрия обладают биологической активностью в диапазоне 0,001–0,0001%. Изменение витальных показателей семян и линейно-весовых характеристик проростков зависит от концентрации раствора гуминовой кислоты. Максимального роста и развития проростки достигают в вариантах с концентрацией гумата натрия 0,001%. Энергия прорастания семян повышалась в среднем до 8%, всхожесть – до 9%, масса проростков – до 43% относительно контрольного значения.

Стимулирующий эффект гуминовых кислот обусловлен наличием ароматических фрагментов в структуре. Ростостимулирующие свойства гуминовых кислот обнаруживаются для фрагментов ГК с молекулярным размером около 1000 Да. Рассмотренные в работе образцы гуминовых кислот обладают отличительными структурными особенностями. Образец гуминовой кислоты Aldrich характеризуется относительно высоким содержанием ароматических фрагментов, обуславливающих биостимулирующие эффекты.

Только у исходного образца гуминовой кислоты обнаруживается полоса средней интенсивности 875 см⁻¹, характерная для пентазамещенных ароматических структур и многоядерных углеводов.

Установлено выраженное влияние раствора гуминовой кислоты низкой концентрации на структурно-тканевую уровень корневой системы.

Список литературы

1. Garcia A.C., Izquierdo F.G., Berbara R. Effects of humic materials on plant metabolism and agricultural productivity // *Emerging technologies and management of crop stress tolerance*. San Diego, 2014. Pp. 449–466.
2. Behzad S. Foliar application of humic acid on plant height in canola // *APCBEE Procedia*. 2014. Vol. 8. Pp. 82–86.
3. Nuzzo A., Sanchez A., Fontaine B., Piccolo A. Conformational changes of dissolved humic and fulvic superstructures with progressive iron complexation // *J. Geochem. Explor.* 2013. Vol. 129. Pp. 1–5.
4. Xitao L., Wenjuan Z., Ke S., Chunye L., Ye Z. Immobilization of cadmium onto activated carbon by microwave irradiation assisted with humic acid // *J. Taiwan. Inst. Chem.* 2013. Vol. 44. Pp. 972–976.
5. Tang W.-W., Zeng G.-M., Gong J.-L., Liang J., Xu P., Zhang C., Huang B.-B. Impact of humic/fulvic acid on the removal of heavy metals from aqueous solutions using nanomaterials: A review // *Sci. Total Environ.* 2014. Vol. 468–469. Pp. 1014–1027.
6. Canellas L.P., Dobbss L.B., Oliveira A.L., Chagas J.G., Aguiar N.O., Rumjanek V.M., Novotny E.H., Olivares F.L., Spaccini R., Piccolo A. Chemical properties of humic matter as related to induction of plant lateral roots // *Eur. J. Soil Sci.* 2012. Vol. 63. Pp. 315–324.
7. Nardi S., Pizzeghello D., Gessa C., Ferrarese L., Trainotti L., Casadoro G. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings // *Soil Biology and Biochemistry*. 2000. Vol. 32. Pp. 415–419.
8. Chen Y., Clapp C.E., Magen H. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: The role of organo-iron complexes // *Soil Sci. Plant Nutr.* 2004. Vol. 50. N7. Pp. 1089–1095.
9. Gostisheva M.V., Belousov M.V., Yusubov M.S., Dmitruk S.E., Ismatova R.R. Comparative IR spectral characteristics of humic acids from peats of different origin in the Tomsk area // *Pharmaceutical chemistry journal*. 2009. Vol. 43. Pp. 418–421.
10. Черников В.А. Методы структурной диагностики органического вещества почв // *Методы исследований органического вещества почвы*. М., 2005. С. 135–147.
11. Кудярова А.Ю. Использование электронной спектроскопии для выявления структурных различий гумусовых кислот целинной и пахотной серой лесной почвы // *Почвоведение*. 2008. №9. С. 1079–1091.

12. Кудярова А.Ю. Об информативности электронных спектров гумусовых веществ // Почвоведение. 2001. №11. С. 1323–1331.
13. Тарасевич Ю.И., Трифонова М.Ю., Маринин А.И., Доленко С.А., Малышева М.Л. Адсорбционный подход к определению размера и масс молекул гуминовых кислот // Reports of the national academy of Sci. of Ukraine. 2014. №8. С. 109–114.
14. Сухих А.С., Кузнецов П.В. Гель универсального назначения сефадекс LH-20 в разделении и очистке гуминовых кислот и гуминоподобных веществ // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т. 9, №2. С. 266–274.
15. Кравец А.В., Бобровская Д.Л., Касимова Л.В., Зотикова А.П. Предпосевная обработка семян яровой пшеницы гуминовым препаратом из торфа // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2011. №4 (78). С. 22–24.
16. Сухих А.С., Кузнецов П.В. Применение сорбента универсального назначения сефадекса LH-20 в современных медико-биологических исследованиях // Медицина в Кузбассе. 2009. №4. С. 3–12.
17. Сильверстейн Р., Вебстер Ф., Кимл Д. Спектрометрическая идентификация органических соединений: пер. с англ. М., 2011. 557 с.
18. Купцов А.Х., Жижин Г.Н. Фурье-спектры комбинационного рассеяния и инфракрасного поглощения полимеров. М., 2001. 656 с.
19. Смит А.Л. Прикладная ИК-спектроскопия. Основы, техника, аналитическое применение. М., 1982. 327 с.
20. Зарипов А.Р., Асабина Е.А., Петьков В.И., Куражковская В.С., Стефанович С.Ю., Ровный С.И. Синтез и строение $\text{CsLi}_{0.5}\text{Al}_{0.5}\text{PO}_4$ // Журнал неорганической химии. 2008. Т. 53. №6. С. 932–937.
21. Корбридж Д. Фосфор. Основы химии, биохимии, технологии. М., 1982. 680 с.
22. Пенгин Ю.А., Вилков Л.В. Физические методы исследования в химии. М., 2006. 683 с.
23. Тарасевич Ю.И., Доленко С.А., Трифонова М.Ю., Алексеенко Е.Ю. Ассоциация и коллоидно-химические свойства гуминовых кислот в водных растворах // Коллоидный журнал. 2013. Т. 75, №2. С. 230–236.
24. Федоров Г.Н., Шоба С.А. О природе гумусовых веществ // Почвоведение. 2015. №12. С. 1424–1432.

Поступило в редакцию 26 февраля 2016 г.

После переработки 22 апреля 2016 г.

Kondratenko E.P.¹, Sukhikh A.S.^{2*}, Verbitskaya N.V.¹, Soboleva O.M.¹ BIOSTIMULATION AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF SODIUM HUMATE

¹Kemerovo state agricultural Institute, ul. Markovtseva, 5, Kemerovo, 650056 (Russia)

²Kemerovo state medical Academy, ul. Voroshilova, 22^A, Kemerovo, 650029 (Russia), e-mail: meer@yandex.ru

Complex modern spectral analysis methods (IR, NMR C¹³) carried out a comparative physico-chemical and biological characterization of humic acid sodium humate sample Aldrich (Germany). Stimulation of germination was studied on the seeds of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). Changes in vital signs and weight characteristics linearly wheat seeds depends on the concentration of humic acid. Seed treatment 0,001% solution of humic acid increases the growth and development of the root system of seedlings by 43,9% relative to the control. In the treatment of seeds of wheat of sodium humate solutions of a concentration of 0,01% to 0,0001% degree of activation revealed vary the energy potential in sprouts, associated with a pool of high-energy compounds. By IR spectroscopy pronounced effect of humic acid solution at a low concentration of structural and tissue levels of the root system. Chromatography using Sephadex LH-20 revealed that a pronounced stimulating effect on seed germination fraction of humic acids have a molecular weight of about 1000 Da. These fractions at the interface, with the participation of the grain shell, trigger a cascade of redox processes in which humic acids act as an inductor.

Keywords: sodium humate, infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance, Sephadex LH-20, biodyne.

References

- Garcia A.C., Izquierdo F.G., Berbara R. *Emerging technologies and management of crop stress tolerance*. San Diego, 2014, pp. 449–466.
- Behzad S. *APCBEE Procedia*. 2014, vol. 8, pp. 82–86.
- Nuzzo A., Sanchez A., Fontaine B., Piccolo A. *J. Geochem. Explor.*, 2013, vol. 129, pp. 1–5.
- Xitao L., Wenjuan Z., Ke S., Chunye L., Ye Z. *J. Taiwan. Inst. Chem.*, 2013, vol. 44, pp. 972–976.
- Tang W.-W., Zeng G.-M., Gong J.-L., Liang J., Xu P., Zhang C., Huanget B.-B. *Sci. Total Environ.* 2014, vol. 468–469, pp. 1014–1027.
- Canellas L.P., Dobbss L.B., Oliveira A.L., Chagas J.G., Aguiar N.O., Rumjanek V.M., Novotny E.H., Olivares F.L., Spaccini R., Piccolo A. *Eur. J. Soil Sci.*, 2012, vol. 63, pp. 315–324.
- Nardi S., Pizzeghello D., Gessa C., Ferrarese L., Trainotti L., Casadoro G. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, vol. 32, pp. 415–419.
- Chen Y., Clapp C.E., Magen H. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 2004, vol. 50, no. 7, pp. 1089–1095.
- Gostisheva M.V., Belousov M.V., Yusubov M.S., Dmitruk S.E., Ismatova R.R. *Pharmaceutical chemistry journal*, 2009, vol. 43, pp. 418–421.
- Chernikov V.A. *Metody issledovaniy organicheskogo veshchestva pochvy*. Moscow, 2005, pp. 135–147. (in Russ.).
- Kudeiarova A.Iu. *Pochvovedenie*, 2008, no. 9, pp. 1079–1091. (in Russ.).
- Kudeiarova A.Iu. *Pochvovedenie*, 2001, no. 11, pp. 1323–1331. (in Russ.).
- Tarasevich Iu.I., Trifonova M.Iu., Marinin A.I., Dolenko S.A., Malysheva M.L. *Reports of the national academy of Sci. of Ukraine*, 2014, no. 8, pp. 109–114. (in Russ.).
- Sukhikh A.S., Kuznetsov P.V. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2009, vol. 9, no. 2, pp. 266–274. (in Russ.).
- Kravets A.V., Bobrovskaya D.L., Kasimova L.V., Zotikova A.P. *Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2011, no. 4 (78), pp. 22–24. (in Russ.).
- Sukhikh A.S., Kuznetsov P.V. *Meditsina v Kuzbasse*, 2009, no. 4, pp. 3–12. (in Russ.).
- Silverstein R., Webster F., Kiml D. *Spektrometricheskaya identifikatsiya organicheskikh soedinenii*. [Spectrometric identification of organic compounds]. Moscow, 2011, 557 p. (in Russ.).
- Kuptsov A.Kh., Zhizhin G.N. *Fur'e-spektry kombinatsionnogo rasseianiya i infrakrasnogo pogloshcheniya polimerov*. [FT-spectra and infrared absorption polymers]. Moscow, 2001, 656 p. (in Russ.).
- Smit A.L. *Prikladnaia IK-spektroskopii. Osnovy, tekhnika, analiticheskoe primenenie*. [Applied Infrared Spectroscopy. Fundamentals, techniques, analytical application]. Moscow, 1982, 327 p. (in Russ.).
- Zaripov A.R., Asabina E.A., Pet'kov V.I., Kurazhkovskaya V.S., Stefanovich S.Iu., Rovnyi S.I. *Zhurnal neorganicheskoi khimii*, 2008, vol. 53, no. 6, pp. 932–937. (in Russ.).
- Korbridzh D. *Fosfor. Osnovy khimii, biokhimii, tekhnologii*. [Phosphorus. Fundamentals of chemistry, biochemistry, technology]. Moscow, 1982, 680 p. (in Russ.).
- Pentin Iu.A., Vil'kov L.V. *Fizicheskie metody issledovaniya v khimii*. [Physical methods of research in chemistry]. Moscow, 2006, 683 p. (in Russ.).
- Tarasevich Iu.I., Dolenko S.A., Trifonova M.Iu., Alekseenko E.Iu. *Kolloidnyi zhurnal*, 2013, vol. 75, no. 2, pp. 230–236. (in Russ.).
- Fedorov G.N., Shoba S.A. *Pochvovedenie*, 2015, no. 12, pp. 1424–1432. (in Russ.).

Received February 26, 2016

Revised April 22, 2016

* Corresponding author.