

ВОДА, АКТИВИРОВАННАЯ СВЧ-ПЛАЗМОЙ, КАК РЕГУЛЯТОР РОСТА ХВОЙНЫХ

Сергейчев К.Ф.², Апашева Л.М.¹, Лукина Н.А.², Будник М.И.¹, Овчаренко Е.Н.¹,
Лобанов А.В.¹

¹ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН

ул. Косыгина, 4, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: ziraf@mail.ru

² Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН»

ул. Вавилова, 38, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: office@gpi.ru

Поступила в редакцию 22.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0528

«Человечество далее не может стихийно строить свою историю, а должно согласовывать ее с законами биосферы, от которой человек неотделим».

В.И. Вернадский

Аннотация. Сокращение мировых лесных массивов грозит глобальной экологической катастрофой. Вклад лесов и фитопланктона морей и океанов в процессах фотосинтеза, отвечающего за поддержание кислорода в атмосфере Земли, делится поровну при соотношении площадей лесов и водной поверхности 9:71. Защита и возобновление утраченных лесов, в России хвойных лесов, первостепенная задача. Проблема восстановления лесов решается на правительственном уровне. Постановление Правительства РФ от 21.09.2020 № 1509 «Об особенностях использования, охраны, защиты, воспроизводства лесов ...». Исследовали влияние воды, активированной плазмой (ВАП), на прорастание семян, развитие хвойных на ранних стадиях их роста. ВАП получали с помощью СВЧ-плазмотрона, генерирующего плазму в атмосфере. ВАП содержит растворы пероксида водорода и оксидов азота, которые необходимы для жизнедеятельности растений. Растворы ВАП тестировали по концентрации пероксида водорода. Начальная концентрация пероксида водорода составила $8 \cdot 10^{-3}$ М. Семена ели, лиственницы проращивали на фильтрах, увлажненных в контроле водой, в опыте – растворами ВАП. Наиболее эффективным раствором ВАП оказался раствор с концентрацией пероксида водорода $2 \cdot 10^{-6}$ М, который обеспечивал повышение прорастания семян лиственницы и ели на 25 и 30% соответственно по сравнению с контролем. Проросшие семена помещали в прозрачные культуральные сосуды на песок, который однократно увлажняли в контроле водой, в опыте – растворами ВАП. Сосуды закрывали. Выращивали сеянцы в стрессовых условиях изоляции. Тестировали развитие дистанционно. К 30-м суткам в контроле выжило 5%, в опыте – 40-45% сеянцев.

Ключевые слова: плазма, стимуляция, регуляция роста, фотосинтез, семена, ель, лиственница.

Зарождение 2,45 млрд лет назад свободного кислорода в гидросфере и атмосфере Земли связано с появлением цианобактерий, которые положили начало процессу фотосинтеза, превращающего углекислый газ в углеводы и кислород [1,2]. Население Земли за 70 лет жизни одного поколения с 1951 по 2022 год выросло с 2,56 до 8,00 млрд человек. Накопление в атмосфере парниковых газов, вызванное хозяйственной деятельностью человека, стало одной из причин глобального потепления в середине прошлого века. Основную роль в глобальном потеплении сыграл углекислый газ CO₂, содержание которого в атмосфере выросло на 40% по сравнению с «доиндустриальным» периодом, что увеличило аккумуляцию тепла в атмосфере на 55%.

Основными источниками пополнения земной атмосферы кислородом являются леса и фитопланктон (включая водоросли) океанов и морей. Вклад кислорода в атмосферу от этих источников делится поровну. При этом из 71% водной поверхности Земли (морей и океанов) в атмосферу поступает столько же кислорода от фитопланктона и водорослей. Вопреки мнению некоторых экологов, что океаны и моря – неисчерпаемый источник кислорода, леса и зеленые насаждения оказываются в 8 раз более эффективными производителями кислорода в расчёте на единицу поверхности планеты.

Площади лесов сокращаются, что болезненно отражается на состоянии климата и биосферы планеты. К настоящему времени не существует уже половины всех лесов, покрывавших поверхность планеты 8000 лет назад [3]. Около 7,3 млн га лесных ресурсов теряются каждый год. Повсеместное сокращение лесных массивов (массовые неконтролируемые рубки, пожары и др.) грозит в условиях меняющегося климата обмелением рек, водоёмов, уменьшением запасов пресной воды.

В России проблема восстановления лесов решается на правительственном уровне (Постановление Правительства РФ от 21.09.2020 № 1509 «Об особенностях использования, охраны, защиты, воспроизводства лесов ...»). В РФ сокращаются леса преимущественно хвойных пород, имеющих коммерческое значение. Естественное возобновление хвойных пород деревьев на вырубках наблюдается редко, место хвойных занимают лиственные. Хвойные породы при пересадке трудно приживаются, требуются определенные условия и уход за ними. Для воспроизводства лесов необходимо длительное время – не менее 30 лет. Выращивание лесных культур, в частности хвойных, осложнено еще тем, что прорастание семян в природных условиях начинается после нескольких месяцев глубокого покоя при пониженных температурах. Традиционно для проращивания семян

хвойных практикуется предварительная длительная обработка их холодом – стратификация. Перед посевом семена замачивают, всходы обычно появляются на 15-20-й день.

Востребованы исследования способов сокращения периода покоя, минуя стратификацию, исследования методов активации прорастания семян хвойных, методов стимуляции развития сеянцев.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследование методов активации прорастания семян хвойных пород деревьев – ели, лиственницы без стратификации, а также разработка методов стимуляции роста сеянцев хвойных в условиях замкнутого объема на обедненной среде, используя растворы воды, активированной плазмой (далее – ВАП), получаемой с помощью СВЧ-плазмотрона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для экспериментов выбраны представители хвойных пород: ель обыкновенная *Picea abies*, сорт Заповедные дали, лиственница *Larix* сорт Сибирская бригантина; семена предоставлены агрофирмой «Гавриш».

Растворы ВАП получали с помощью разработанной методики, основанной на активации дистиллированной воды струей термической аргоновой плазмы безэлектродного СВЧ-разряда при атмосферном давлении [4,5]. Растворы ВАП содержат пероксид водорода (H_2O_2) и оксиды азота (NO_x). Концентрацию пероксида определяли методом йодометрии на спектрофотометре «Specord-UV». Концентрацию оксидов азота измеряли по электропроводности растворов ВАП прибором TDS-3. Вклад пероксида водорода в электропроводность раствора ничтожно мал и его можно не учитывать.

В исходном растворе ВАП были измерены:

концентрация пероксида водорода $[H_2O_2] = 8 \cdot 10^{-3}$ М;

концентрация оксидов азота $[NO_x] = 3,1 \cdot 10^{-4}$ М.

Для получения рабочих растворов исходные растворы ВАП разбавляли дистиллированной водой. Растворы тестировали по содержанию в них пероксида водорода.

Сухие семена хвойных, не прошедшие стратификацию, раскладывали в чашки Петри на фильтры, которые увлажняли в контроле дистиллированной водой, в опыте – растворами ВАП. Чашки Петри с семенами помещали в термостат с температурой $+20$ °С, через 6 суток наблюдали появление уже проросших семян и учитывали их количество.

Далее для подращивания сеянцев отбирали живые проросшие семена и раскладывали их в специальные культуральные сосуды из ПЭТ-пластика на заранее промытый и высушенный песок. Песок однократно увлажняли в контроле дистиллированной водой, в опыте – растворами ВАП. Сосуды закрывали и переносили в люминистат. Условия культивирования: освещенность 130 люкс, ритм свет: темнота – 12:12 ч, температура $+19-20$ °С, обедненный грунт – промытый песок.

За развитием сеянцев наблюдали дистанционно в течение 50 суток. Учитывали степень развития сеянцев по меняющимся морфологическим признакам, количество выживших в условиях культивирования сеянцев к определенному времени.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Растворы ВАП достаточно стабильны при хранении в условии лаборатории, что показано при измерении количества пероксида в растворах.

1. Прорастание семян в термостате в чашках Петри.

Изначально сухие семена ели и лиственницы прорастивали в течение 6 суток на фильтрах, увлажненных в контроле дистиллированной водой, в опыте – растворами ВАП с измеренной соответствующей концентрацией пероксида водорода.

Сразу отметим, что использование для обработки семян растворов ВАП (концентрация пероксида – $2 \cdot 10^{-3}$ М) блокировало прорастание семян ели и лиственницы. Использование растворов ВАП с концентрацией пероксида в них меньше $2 \cdot 10^{-6}$ М для прорастивания семян было не эффективно, отличия от контроля не наблюдали.

Приводим результаты определения числа проросших семян после 6 суток прорастивания в термостате, где отмечен эффект стимуляции прорастания. В опытах, где обрабатывали семена лиственницы, получено следующее. Проросло в контроле – 15% семян, лучший результат получен при использовании раствора ВАП с концентрацией пероксида $2 \cdot 10^{-6}$ М, где определено 40% проросших семян. В опытах с семенами ели определено в контроле 20% проросших семян, в опыте, где отмечен лучший результат с раствором ВАП с концентрацией пероксида $2 \cdot 10^{-6}$ М, определено 50% проросших семян.

2. Выращивание сеянцев в стрессовых условиях изоляции от окружающей среды.

Проросшие в чашках Петри живые семена ели отбирали для выращивания сеянцев. Семена раскладывали в культуральные сосуды из ПЭТ-пластика на заранее промытый и подсушенный песок. Песок однократно



Рисунок 1. Фото сеянцев ели на 15-е сутки роста. О – опыт, К – контроль

увлажняли в контроле дистиллированной водой, в опыте – растворами ВАП с определенной концентрацией пероксида водорода. В опыте 1 раствор ВАП с концентрацией пероксида $2 \cdot 10^{-5}$ М, в опыте 2 раствор ВАП с концентрацией пероксида $2 \cdot 10^{-6}$ М. Сосуды закрывали, выставляли в люминостат. Периодически осуществляли внекорневую обработку сеянцев в контроле дистиллированной водой, в опыте – соответствующими растворами ВАП через прокол в крышке. Наблюдение за развитием сеянцев вели дистанционно.

Учет развития сеянцев проводили в определенное время по следующим тестам.

1. Через 7 суток культивирования учитывали количество сеянцев с раскрытыми семядолями.
2. Через 15 суток культивирования учитывали количество сеянцев, имеющих свободную хвою.

3. Через 30 суток культивирования в стрессовых условиях определяли количество сеянцев, выживших в условиях изоляции на обедненном грунте.

На 7 суток культивирования определено количество сеянцев с раскрытыми семядолями: контроль – 30%, в опыте 2 в два раза больше сеянцев – 60%. На 15 сутки количество сеянцев со свободной хвоей было в контроле 20%, лучший результат в опыте 2 – 60%.

Наиболее значимый тест, по которому можно оценивать эффективность действия растворов ВАП на рост сеянцев в условиях обедненного грунта, – это учет количества выживших сеянцев. Показательно, что количество выживших в опыте сеянцев к 30 суткам опыта было в несколько раз больше, чем в контроле.

Результаты учета роста сеянцев ели в изолированном объеме на обедненной по составу среде приводим в таблице 1, а на рисунке 1 представлена фотография сеянцев ели на 15-е сутки роста в опыте 2 и контроле.

Получаемые растворы ВАП представляют собой комплексный раствор на основе дистиллированной воды, активированной горячей плазмой СВЧ-разряда с содержанием пероксида водорода и оксидов азота. Жизнь растений на клеточном уровне во многом определяется соотношением концентрации этих составляющих. Показано, что пероксид водорода и оксиды азота функционируют в растениях как сигнальные молекулы [6]. Разнообразные абиотические стрессы вызывают у растения образование пероксида, который играет важную роль в метаболизме растений, обеспечивая ему физиологическую защиту, но в то же время избыточное накопление

Таблица 1. Тестирование сеянцев ели, выращенных в изолированном объеме

Вариант	Процент выживших сеянцев, %			
	7 сутки, семядоли раскрыты	15 сутки, свободная хвоя	30 сутки, жизнеспособные	50 сутки, жизнеспособные
Контроль	30	20	5	-
Опыт 1	50	35	40	-
Опыт 2	60	60	45	30

пероксида, связанное наложением стрессов, потенциально опасно. Оксиды азота выступают в роли регулятора разнообразных патофизиологических процессов, благодаря свойству образовывать свободные радикалы, имеют короткую продолжительность жизни, проницаемость через биологические мембраны. Отмечается многообразие функций оксидов азота в росте, развитии и регуляции клеточных процессов у растений. Различные абиотические стрессы могут индуцировать синтез оксидов азота, их образование и механизм действия в растениях до конца не выяснены. Пероксид водорода – сигнальная молекула, является одной из существенных составляющих жизнедеятельности растения, играет определяющую роль в процессе фотосинтеза [7].

Проращивание семян под влиянием комплексного раствора ВАП ($\text{NO}_x\text{-H}_2\text{O}_2$) оказывает, вероятно, синергетическое действие на пробуждение семян в результате проникновения раствора через оболочку и инициации механизмов пробуждения при участии гиббереллиновой и абсцизовой кислот. Высокий выход проросших семян под действием раствора ВАП по сравнению с контролем дает объяснение тому, что стратификация может быть исключена из процедуры проращивания семян хвойных, благодаря замачиванию в растворах ВАП ($\text{NO}_x\text{-H}_2\text{O}_2$) оптимальной концентрации.

Таким образом:

1. Получены растворы ВАП (вода, активированная струей аргоновой плазмы безэлектродного СВЧ-разряда) с помощью авторской установки СВЧ-плазмотрона.
2. Растворы ВАП представляют собой комплексный раствор оксидов азота и пероксида водорода.
3. Определены оптимальные концентрации водных растворов ВАП для прорастания семян и роста сеянцев хвойных.
4. Получаемые растворы ВАП являются эффективными регуляторами роста для проращивания семян и культивирования сеянцев хвойных в стрессовых условиях.

Список литературы / References:

1. Holland H.D. In *Early Life on Earth* (ed. Bengtson S.). *Columbia Univ. Press*, New York, 1994, pp. 237-244.
2. Kump L. The rise of atmospheric oxygen. *Nature*, 2008, vol. 451, pp. 277-278, doi: 10.1038/nature06587.
3. Калининская Е.И. Леса на планете Земля. *Наука и жизнь*, 2017, № 6, с. 46-49. [Kalininskaya E.I. Forests on the planet Earth. *Science and life*, 2017, no. 6, pp. 46-49. (In Russ.)]
4. Сергейчев К.Ф., Лукина Н.А., Андреев С.Н., Апашева Л.М., Савранский В.В., Лобанов А.В. *Способ плазменной активации воды и устройство для его осуществления*. Патент РФ № 2702594, 2019 г. [Sergeychev K.F., Lukina N.A., Andreev S.N., Apasheva L.M., Savransky V.V., Lobanov A.V. *A method of plasma activation of water and a device for its implementation*. RF Patent no. 2702594, 2019. (In Russ.)]
5. Сергейчев К.Ф., Лукина Н.А., Апашева Л.М., Овчаренко Е.Н., Лобанов А.В. Вода, активированная струей аргоновой СВЧ-плазмы, как фактор, стимулирующий прорастания семян. *Химическая физика*, 2022, т. 41, № 1, с. 60-65. [Sergeychev K.F., Lukina N.A., Apasheva L.M., Ovcharenko E.N., Lobanov A.V. Water activated by a jet of argon UHF plasma as a factor stimulating seed germination. *Chemical physics*, 2022, vol. 41, no. 1, pp. 60-65. (In Russ.)]
6. Mazid M., Khan T.A., Mohammad F. Role of nitric oxide in regulation of H_2O_2 mediating tolerance of plants to abiotic stress: a synergistic signaling approach. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 2011, vol. 7, no. 2, pp. 34-74.
7. Комиссаров Г.Г. *Фотосинтез: физико-химический подход*. М.: Эдиториал УРСС, 2003, 224 с. [Komissarov G.G. *Photosynthesis: a physico-chemical approach*. М.: Editorial URSS, 2003, 224 p. (In Russ.)]

WATER ACTIVATED BY UHF-PLASMA AS A GROWTH FOR CONIFER SEEDLINGS
Sergeychev K.F.², Apasheva L.M.¹, Lukina N.A.², Budnik M.I.¹, Ovcharenko E.N.¹, Lobanov A.V.¹¹N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics Russian Academy of Sciences

4 Kosygina Street, Moscow, 119991, Russia; e-mail: ziraf@mail.ru

²A.M. Prokhorov Federal Research Center Institute for General Physics Russian Academy of Sciences

38 Vavilova Street, Moscow, 119991, Russia; e-mail: office@gpi.ru

Received 22.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbp.2022.0528

Abstract. The reduction of the world's forests threatens a global ecological catastrophe. The contribution of forests and phytoplankton of the seas and oceans in the processes of photosynthesis, responsible for maintaining oxygen in the Earth's atmosphere, is divided equally at a ratio of forest and water surface areas of 9:71. The protection and restoration of lost forests, in Russia coniferous forests, is a paramount task. The problem of forest restoration is being solved at the government level. Decree of the Government of the Russian Federation dated 21.09.2020 No. 1509 «On the peculiarities of the use, protection, protection, reproduction of forests ...». The effect of plasma-activated water (PAW) on the stimulation of seed germination, the development of conifers in the early stages of their growth was studied. PAW was obtained using UHF plasmotron generating plasma in the atmosphere. PAW contains solutions of hydrogen peroxide and nitrogen oxides, which are necessary for plant life. VAP solutions were tested by the concentration of hydrogen peroxide. The initial concentration of hydrogen peroxide was $8 \cdot 10^{-3}$ M. The seeds of fir and larch were germinated on filters moistened with water in the control, in the experiment with VAP solutions. The most effective VAP solution was a solution with a hydrogen peroxide concentration of $2 \cdot 10^{-6}$ M, which provided an increase in the germination of larch and fir seeds by 25 and 30%, respectively, compared with the control. The germinated seeds were placed in transparent culture vessels on sand, which was moistened once with water in the control, in the experiment with VAP solutions. The vessels were closed. Seedlings were grown in stressful isolation conditions. We tested the development remotely. By the 30th day, 5% of the seedlings survived in the control and 40–45% of the seedlings survived in the experiment.

Key words: *plasma, stimulation, growth regulation, photosynthesis, seeds, fir, larch.*