

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛАЗЕРНОГО ИМПУЛЬСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И РАСТВОРОВ ЭКОПЕРОКСИДА ДЛЯ АКТИВАЦИИ СЕМЯН САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Апашева Л.М.<sup>1</sup>, Будник М.И.<sup>1,3</sup>, Смурова Л.А.<sup>1</sup>, Овчаренко Е.Н.<sup>1</sup>, Лобанов А.В.<sup>1</sup>, Савранский В.В.<sup>2</sup>, Турбин В.В.<sup>3</sup>, Розанцев М.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН  
ул. Косыгина, 4, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: ziraf@mail.ru

<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН»  
ул. Вавилова, 38, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: office@gpi.ru

<sup>3</sup> Научно-производственное объединение «Экопероксид водорода»  
21 км Варшавского ш, 1. Ленинский р-н, пос. Булатниковское, Московская обл., 142718, РФ;  
e-mail: info@ecoperoksid.ru

Поступила в редакцию 22.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0529

**Аннотация.** Сахарная свекла, двулетняя техническая сельскохозяйственная культура, используется для производства этанола, биотоплива, сахара и содержит до 70% сахарозы. Затруднено получение семян, сбор которых проходит на второй год культивирования корнеплодов. Изучали возможность ускорения активации семян, повышения всхожести способами предпосевной обработки сухих семян: лазерным импульсным излучением и растворами экопероксида. Первым тестом, свидетельствующим о начале пробуждения семян (один час после обработки), был тест определения выхода метаболитов в водную среду культивирования. Метаболиты определяли методом спектрофотометрии. Они имеют характерный спектр поглощения в УФ-области с четким максимумом при  $\lambda_{\text{макс}} - 207$  нм и поглощением до границы с видимой областью  $\lambda_{\text{макс}} - 330$  нм. Использовали лазер на парах меди. Параметры: одновременная генерация двух длин волн – зеленая 510,5 нм и желтая 578,2 нм. Длительность импульса излучения – 15 нс, частота повторения – 10 кГц. Время облучения 10, 20, 90 с. Наибольший эффект стимуляции прорастания семян при 10 с облучения превышал контроль на 30%. Увеличение интервала до 24 часов и более между облучением и помещением семян на проращивание сокращало количество проросших семян. Экопероксид получали при высокоэнергетическом бесконтактном воздействии на дистиллированную воду стримерами высоковольтного электрического разряда. Повышение всхожести семян на 30-40% отмечено при их контакте с раствором экопероксида в течение 30 мин.  
**Ключевые слова:** сахарная свекла, лазерное импульсное излучение, экопероксид, стимуляция.

Сахарная свекла, двулетняя сельскохозяйственная техническая культура, используется для производства этанола, биотоплива, для получения сахара, содержит в сухой массе до 70% сахарозы. Ее выращивание требует определенных способов возделывания. Условия культивирования свеклы усложнены тем, что качественные семена возможно получить лишь на второй год культивирования корнеплодов. Для выращивания корнеплодов также необходимы определенные условия: сохранение их до следующего вегетационного периода и последующего культивирования в грунте [1]. Востребованы способы оптимизации предпосевной обработки семян свеклы с целью ускорения прорастания и дальнейшей стимуляции роста.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Известно, что начальные этапы роста во многом определяют последующее развитие растений. Изучали возможность стимуляции активации семян сахарной свеклы, повышения всхожести, ускорение их прорастания способами предпосевной обработки:

импульсным лазерным излучением при генерации двух длин волн [2];

водными растворами экологически чистого пероксида водорода (далее – экопероксид) [3].

Оценивали минимальное время обработки семян, достаточное для проявления стимуляционного воздействия лазерным излучением и водными растворами экопероксида. Определяли также минимальное время допустимого интервала между обработкой семян предлагаемыми способами и помещением семян на проращивание, где фиксировали начало пробуждения семян.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Тест-объектом были семена сахарной свеклы F1 РМС 121 производства агрофирмы «Гавриш». Эффективность предпосевной обработки семян определяли в два этапа:

через 1-2 часа определяли начало пробуждения семян по выходу в водную среду культивирования метаболитов;

после обработки семян через 48 часов фиксировали прорастание семян по морфологическим тестам.

Начальные стадии процесса прорастания семян сопровождаются выходом в водную среду культивирования продуктов жизнедеятельности – метаболитов. Метаболиты имеют характерный спектр поглощения в УФ-области

с четко выраженным максимумом при  $\lambda_{\text{макс}} - 207$  нм. Характер их спектра не меняется по ходу процесса прорастания семян, что свидетельствует о том, что другие возможные продукты прорастающего семени не имеют заметного поглощения в УФ-области на начальных стадиях роста. Электронные спектры поглощения регистрировали с помощью спектрофотометра «Specord UV-Vis» при комнатной температуре в кварцевой кювете с длиной оптического пути  $l = 10$  мм.

Сухие семена свеклы обрабатывали импульсным излучением лазера на парах меди. Параметры излучения: одновременная генерация двух длин волн – зеленая 510 нм и желтая 578,2 нм, длительность импульса излучения – 15 с, частота повторения импульсов – 10 кГц, суммарная энергия и мощность в импульсе  $3 \cdot 10^{-4}$  Дж и  $2 \cdot 10^4$  Вт, соответственно. Соотношение значений энергии и мощности между зеленой и желтой линиями излучения было 3:1, суммарная плотность мощности –  $2 \cdot 10^4$  Вт/см<sup>2</sup>. Облучение проводили в течение 10, 20 и 90 с.

Экопероксид получали с помощью созданных природоподобных способа и устройства, которые реализовывались при высокоэнергетическом, бесконтактном воздействии на дистиллированную воду стримерами высоковольтного электрического разряда. Растворы экопероксида тестировали по количеству содержащегося в них пероксида водорода. Количество пероксида водорода в растворах определяли методом йодометрии на спектрофотометре в УФ-области.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После обработки сухие семена свеклы помещали для проращивания в чашки Петри на фильтры, увлажненные в контроле водой, в опыте увлажнение осуществляли растворами экопероксида. Исходный получаемый раствор экопероксида содержал пероксид водорода с концентрацией  $5 \cdot 10^{-4}$  М. Его разводили водой для получения ряда растворов. Рабочие растворы имели следующие концентрации пероксида водорода:

$$O_1 - 5 \cdot 10^{-4} \text{ М}, O_2 - 5 \cdot 10^{-5} \text{ М}, O_3 - 5 \cdot 10^{-6} \text{ М}.$$

Чашки с семенами переносили в термостат при температуре  $+20^\circ\text{C}$ . Через 48 часов культивирования проводили учет количества проросших семян. Получено, что использование раствора экопероксида с концентрацией  $O_1$  блокировало прорастание семян. Наибольший эффект стимуляции отмечен при проращивании семян в опыте  $O_3$ , где отмечено превышение контрольных значений на 30-40%.

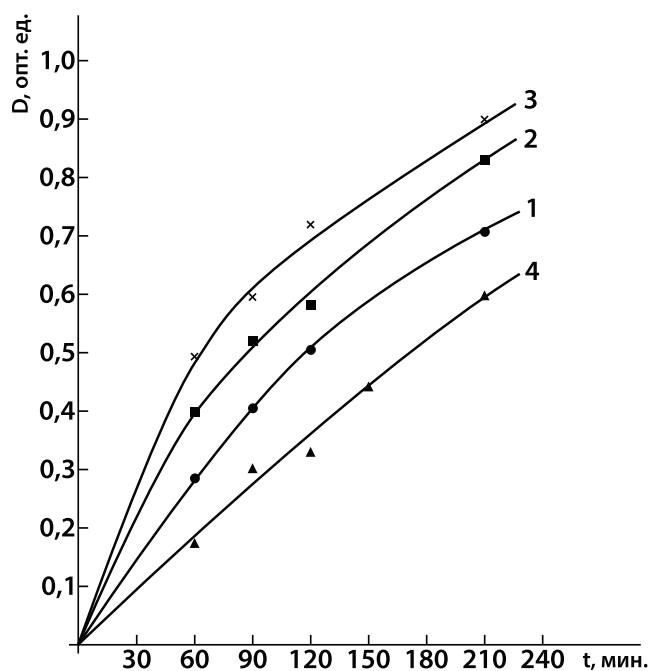
Проведен анализ наименьшего времени, достаточного для стимуляции прорастания при контакте семян с раствором экопероксида. Тестирование пробуждения семян в первые часы контакта фиксировали спектрофотометрически, определяя выход метаболитов. Через 48 часов культивирования учитывали количество проросших семян. Определено минимальное время контакта семян с раствором экопероксида для стимуляции прорастания. Использовали метод фиксации выхода метаболитов в водную среду с помощью спектрофотометрии в УФ-области. Получено, что при 30-ти минутной обработке семян раствором экопероксида, где концентрация пероксида водорода была  $5 \cdot 10^{-6}$  М, достаточно для активации семян, что зафиксировано уже через 1 час после обработки в анализированных пробах на спектрофотометре. Пробуждение семян с помощью морфологических тестов возможно отметить лишь более чем через 48 часов проращивания семян в термостате на влажных фильтрах в чашках Петри.

Для выявления эффектов обработки лазером сухих семян свеклы их облучали в течение 10, 20, 90 с. Семена разделяли на партии для определения временного интервала между облучением и получением эффекта обработки. Контрольные и обработанные семена помещали на проращивание в чашки Петри на фильтры, которые увлажняли водой и переносили в термостат при температуре  $+20^\circ\text{C}$  на 48 часов.

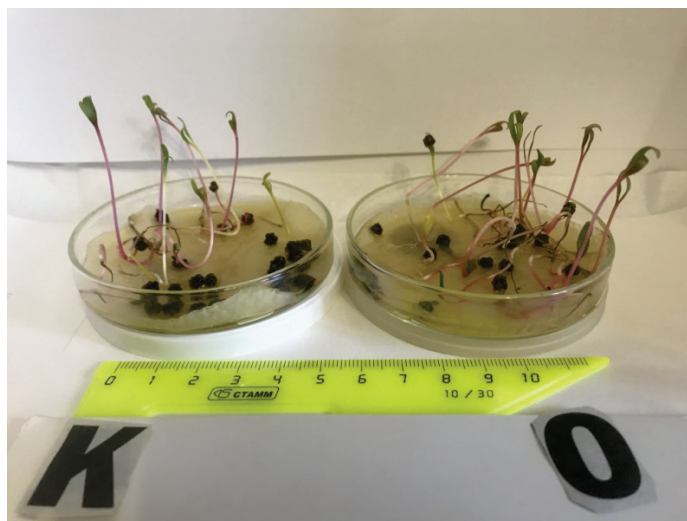
При временном интервале в 1 час между облучением и увлажнением семян анализировали эффективность обработки. Получено, что облучение семян лазером в течение 10 с увеличивало число проросших семян по сравнению с контролем на 30%. Облучение в течение 20 с увеличило количество проросших семян только на 20%, облучение в течение 90 с блокировало прорастание. Увеличение временного интервала между облучением и увлажнением семян на фильтрах в термостате значительно снижает эффективность обработки. Снижение стимулирующего действия облучения при паузе в 24 часа между обработкой и фиксации эффекта уменьшало количество проросших семян в опыте по сравнению с контролем до 20%. Временная пауза в 48 часов между облучением и помещением семян на проращивание приводит к полной блокировке прорастания семян.

Одним из первых тестов, по которому можно судить об эффекте лазерного облучения семян, можно считать определение с помощью спектрофотометрии в УФ-области выхода метаболитов в водную среду культивирования в максимуме поглощения при  $\lambda_{\text{макс}} - 207$  нм. Выход метаболитов, регистрируемый по УФ-спектру, наблюдается практически сразу после увлажнения семян и помещением их в культуральные сосуды с водой, когда морфологические изменения еще не наблюдаются. Можно предположить, что вещества, выделяемые в водную среду, представляют собой продукты катаболизма (аминокислоты, сахара). Аминокислоты обладают общим свойством – отсутствием поглощения по всей видимой области спектра. Контролем были семена, проращиваемые без облучения. Пробы воды в контроле и в опыте отбирали через определенные промежутки времени. Измеряли оптическую плотность и семена возвращали в культуральные сосуды с водой до следующих измерений.

На рисунке 1 представлены кинетические кривые выхода метаболитов во времени ( $D_{\text{оп.ед.}} - t_{\text{мин}}$ ) из семян сахарной свеклы в контроле (рис. 1, кривая 1) и в опытных образцах (рис. 1, кривые 2, 3, 4) с облучением



**Рисунок 1.** Кинетические кривые выхода метаболитов во времени из семян свеклы: 1 – контроль; 2 – облучение 10 с; 3 – облучение 20 с; 4 – облучение 90 с



**Рисунок 2.** 8-суточные проростки сахарной свеклы после обработки семян лазером в течение 10 с (контроль и опыт)

10, 20, 90 с, соответственно, а на рисунке 2 – фотография 8-суточных проростков сахарной свеклы после обработки семян лазером в течение 10 с (контроль и опыт).

Из анализа полученных кинетических кривых следует, что процесс метаболизма идет достаточно быстро с начальной скоростью  $\omega_1 = 4,2 \cdot 10^{-3}$  оп.ед./мин для контрольного образца. Для опытных образцов определено  $\omega_2 = 7,0 \cdot 10^{-3}$  оп.ед./мин и  $\omega_3 = 8,0 \cdot 10^{-3}$  оп.ед./мин для образцов, облученных в течение 10 и 20 с, соответственно. Меньшая скорость  $\omega_4 = 2,9 \cdot 10^{-3}$  оп.ед./мин наблюдается в образце 4, где время облучения семян было 90 с, что блокировало прорастание семян.

Приведенные данные по обработке сухих семян сахарной свеклы растворами экопероксида с разным количеством пероксида водорода в них и импульсным лазерным излучением с разными временными позициями свидетельствуют о возможности стимулировать начало активации семян сахарной свеклы при минимальном воздействии, что показано уже при 1-1,5 часа после обработки. Существенно, что мы использовали короткое по времени воздействие на семена, а именно 30 мин контакта с раствором экопероксида или 10-ти секундным лазерным облучением. Этого воздействия было достаточно для получения стимулирующего эффекта. Полагаем, что в случае применения раствора экопероксида именно наличие свободного пероксида водорода в водных растворах экопероксида служит основным стимулирующим фактором для прорастания семян. Показана существенная роль пероксида водорода в жизнедеятельности растений, его значимость в осуществлении процесса фотосинтеза [4].

Предложенная спектрофотометрическая методика в УФ-области фиксации выхода метаболитов позволяет контролировать процесс прорастания семян на ранних стадиях эксперимента, а также изучать скорость накопления метаболитов на начальных стадиях прорастания. Спектрофотометрия может служить экспресс-методом определения эффективности действия различных способов обработки семян.

При воздействии лазерным облучением с одновременной генерации двух длин волн (зеленой 510,5 нм и желтой 578,2 нм) появляются новые длины волн излучения, а именно: 271 нм и 1367 нм в УФ- и ИК-областях соответственно. Имеет место реализация четырех волнового взаимодействия, значительно отличающегося от одночастотного. Возможно протекание биохимических реакций по 4-м каналам, что увеличивает эффект воздействия и влияет на скорость пробуждения семян. Полагаем, что именно этим обеспечивается эффект стимуляции при однократном и кратковременном секундном воздействии лазера на семена.

Кроме того, стимулирующее действия лазера на семена может реализовываться через пероксид водорода, получающийся в результате появляющегося излучения в УФ-области (271 нм), которое может приводить к образованию пероксида водорода [5], обладающего рострегулирующими свойствами [6].

Таким образом:

1. Показана возможность стимулировать прорастание семян сахарной свеклы при предпосевной обработке, используя: а) лазерное импульсное облучение при одновременной генерации двух длин волн; б) водные растворы экопероксида.
2. Предлагаемые методы активации семян сахарной свеклы эффективны при однократном и кратковременном 10-20-секундном воздействии лазера на семена, а также при 30-ти минутной обработке семян водными растворами экопероксида с концентрацией в диапазоне от  $5 \cdot 10^{-5}$  до  $5 \cdot 10^{-6}$  М.
3. Ранним (часы) экспресс-методом для фиксации эффекта предпосевной обработки семян предложена спектрофотометрия в УФ-области.

#### **Список литературы / References:**

1. Векленко В.И. Тенденции развития и устойчивости производства сахарной свеклы в ведущих странах и регионах РФ. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*, 2022, № 2, с. 114-122. [Veklenko V.I. Trends in the development and sustainability of sugar beet production in the leading countries and regions of the Russian Federation. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*, 2022, no. 2, pp. 114-122. (In Russ.)]
2. Апашева Л.М., Будник М.И., Овчаренко Е.Н., Савранский В.В. *Способ повышения всхожести семян и стрессоустойчивости*. Заявка на изобретение № 2022106818 от 15.03.2022. [Apasheva L.M., Budnik M.I., Ovcharenko E.N., Savransky V.V. *A method for increasing seed germination and stress resistance*. Application for invention no. 2022106818 dated 15.03.2022. (In Russ.)]
3. Стребков Д.С., Будник М.И., Апашева Л.М., Лобанов А.В., Овчаренко Е.Н. *Получение экологически чистых растворов пероксида водорода при высокоэнергетическом бесконтактном воздействии на воду и их применение*. Материалы XV международной научной конференции, Севастополь, сентябрь 14-16, 2020, с. 191-192. [Strebkov D.S., Budnik M.I., Apasheva L.M., Lobanov A.V., Ovcharenko E.N. *The production of ecologically pure hydrogen peroxide solutions at high energy non-contact effects on water and their application*. Proceedings of the XV International Scientific Conference, Sevastopol, September 14-16, 2020, pp. 191-192. (In Russ.)]
4. 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.)]
5. Пискарев И.М. Образование перекиси водорода в водных растворах под действием УФ-С излучения. *Химия высоких энергий*, 2018, т. 52, № 3, с. 194-198. [Piskarev I.M. Formation of hydrogen peroxide in aqueous solutions under the action of UV-C radiation. *High Energy Chemistry*, 2018, vol. 52, no. 3, pp. 194-198. (In Russ.)]
6. Апашева Л.М., Будник М.И., Лобанов А.В., Овчаренко Е.Н., Розанцев М.В., Турбин В.В., Сергеев А.И., Стребков Д.С. Экологически чистый пероксид водорода: получение, рострегулирующие свойства. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2021, т. 6, № 2, с. 358-361. [Apasheva L.M., Budnik M.I., Lobanov A.V., Ovcharenko E.N., Rozancev M.V., Turbin V.V., Sergeev A.I., Strebkov D.S. Environmentally friendly hydrogen peroxide: production, growth-regulating properties. *Russian Journal of Biological Physics and Chemistry*, 2022, vol. 6, no. 1, pp. 358-361. (In Russ.)]

## USE OF LASER PULSED RADIATION AND ECOPEROXIDE SOLUTIONS FOR ACTIVATION OF SUGAR BEET SEEDS

Apasheva L.M.<sup>1</sup>, Budnik M.I.<sup>1</sup>, Smurova L.A.<sup>1</sup>, Ovcharenko E.N.<sup>1</sup>, Lobanov A.V.<sup>1</sup>, Savransky V.V.<sup>2</sup>,  
Turbin V.V.<sup>3</sup>, Rozancev M.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics Russian Academy of Sciences  
4 Kosygina Street, Moscow, 119991, Russia; e-mail: ziraf@mail.ru

<sup>2</sup> A.M. Prokhorov Federal Research Center Institute for General Physics Russian Academy of Sciences  
38 Vavilova Street, Moscow, 119991, Russia; e-mail: office@gpi.ru

<sup>3</sup> Scientific and production Association «Eco hydrogen peroxide»  
21 km of Varshavskoye highway, 1, Bulatnikovskoye rural settlement, Moscow region, 142718, Russia;  
e-mail: info@ecoperoksid.ru

Received 22.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbp.2022.0529

**Abstract.** Sugar beet, a biennial industrial agricultural crop, is used for the production of ethanol, biofuels, sugar and contains up to 70% sucrose. It is difficult to obtain seeds, the collection of which takes place in the second year of cultivation of root crops. The possibility of accelerating seed activation, increasing germination by methods of pre-sowing treatment of dry seeds: laser pulsed radiation and ecoperoxide solutions was studied. The first test indicating the beginning of seed awakening (one hour after treatment) was a test for determining the release of metabolites into the aqueous culture medium. The metabolites determined by spectrophotometry. They have a characteristic absorption spectrum in the UV region with a clear maximum at  $\lambda_{\max} - 207$  nm and absorption up to the boundary with the visible region of  $\lambda_{\max} - 330$  nm. A copper vapor laser was used. Parameters: simultaneous generation of two wavelengths – green 510.5 nm and yellow 578.2 nm. The duration of the radiation pulse is 15 ns, the repetition rate is 10 kHz. The irradiation time is 10, 20, 90 s. The greatest effect of seed germination stimulation at 10 s of irradiation exceeded the control by 30%. Increasing the interval to 24 hours or more between irradiation and placing seeds for germination reduced the number of germinated seeds. Ecoperoxide was obtained by high-energy non-contact exposure to distilled water with high-voltage electric discharge streamers. An increase in seed germination by 30-40% was noted when they came into contact with a peroxide solution for 30 minutes.

**Key words:** sugar beet, laser pulsed radiation, ecoperoxide, stimulation.