

ВЛИЯНИЕ РАСТВОРОВ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА РАЗНЫХ СОСТАВОВ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН ОГУРЦА

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

¹ Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН»

ул. Вавилова, 38, г. Москва, 119991, РФ

² Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН

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

Поступила в редакцию 18.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0614

Аннотация. Разработан способ получения чистого пероксида водорода без примеси NO_x путем замены азотной среды, стабилизирующей факельный СВЧ разряд, водяным паром, когда дистиллированная вода и ее пар при атмосферном давлении обрабатываются чистой плазмой инертного аргона. Исследована динамика прорастания семян и развития проростков огурца в чистых растворах пероксида водорода, в растворах медицинского 3% пероксида водорода, стабилизированного бензоатом натрия, и в дистиллированной воде в контроле. Использовались концентрации растворов пероксида водорода в диапазоне от 0,1 мг/л до 10 мг/л. В качестве тест-объекта выбраны семена огурца «Конкурент» с пониженной всхожестью (результат длительного хранения). Семена по 30 штук раскладывали в чашки Петри на фильтры, однократно увлажненные в опыте исследуемыми растворами, а в контроле – дистиллированной водой. Показано, что всхожесть семян и развитие проростков в чистых растворах пероксида водорода достигает 95% при концентрации пероксида водорода 1,7 мг/л, в то время как при использовании медицинского пероксида аналогичный показатель составил 75% при концентрации 0,1 мг/л. Более высокие концентрации медицинского пероксида дали худший результат, в частности, концентрации 3,3 мг/л и 10 мг/л привели к угнетению процесса прорастания семян и показали худший результат.

Ключевые слова: плазма, стимуляция, азот, пероксид водорода, семена.

ВВЕДЕНИЕ

Было показано, что вода, обработанная струей аргоновой СВЧ-плазмы в воздухе или атмосфере азота, оказывала стимулирующее действие на прорастание семян и рост растений, что по эффективности превосходило влияние растворов промышленного пероксида водорода со стабилизирующими добавками. Особенность воды, получаемой [1,2] плазменной активацией (ПАВ), состояла в том, что кроме пероксида водорода в ней содержались оксиды азота (NO_x). Эти компоненты могли оказывать свое специфическое влияние на активацию семян и проростков. Представляется важным разделить влияние H_2O_2 и NO_x на прорастание семян и активацию проростков.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Для изучения влияния только растворов H_2O_2 на прорастание семян и активацию проростков было необходимо из состава ПАВ исключить оксиды азота NO_x . В связи с этим в ИОФ РАН была решена задача получения ПАВ чистого состава H_2O_2 без примеси NO_x путем замены азотной среды, стабилизирующей факельный СВЧ разряд, водяным паром [3], когда дистиллированная вода и ее пар при атмосферном давлении обрабатываются чистой плазмой инертного аргона.

Ранее проводилось сравнение влияния растворов ПАВ, содержащих H_2O_2 и NO_x , и растворов 3% медицинского пероксида водорода (H_2O_2), стабилизированного бензоатом натрия, на прорастание семян растений, что было первым опытом изучения ПАВ. Однако более корректно сравнивать влияние на прорастание семян чистых растворов H_2O_2 , получаемых при обработке водяного пара СВЧ-плазмой, с медицинским пероксидом водорода, что позволит выявить роль стабилизатора на активность аптечного пероксида водорода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Плазмотрон и установка по обработке воды СВЧ-плазмой. В качестве источника СВЧ-колебаний непрерывной генерации для получения ПАВ был использован «Магнетрон Вд-3ф» (АгроЭкоТех) мощностью 1200 Вт с частотой колебаний 2,45 ГГц. Магнетрон, через прямоугольный волновод питает коаксиальный плазмотрон, центральная трубка которого \varnothing 6 мм заканчивается коническим соплом с отверстием \varnothing 1,5 мм. Из сопла в изолированную от воздуха камеру реактора вытекает струя аргона атмосферного давления, в которой зажигается плазменный факел. Для поддержания стабильного горения плазменного факела в пространство между центральной и наружной трубками коаксиального плазмотрона, отделенными кварцевой трубкой-изолятором, подается пар от внешнего парогенератора. Корпус коаксиального плазмотрона через крышку сверху входит в изолированную от воздуха камеру реактора с охлаждаемыми стенками из нержавеющей стали объемом 3,5 л. При зажигании разряда в струе аргона формируется плазменный факел, окруженный паровой завесой. Давление

аргона и пара в камере реактора поддерживали немного выше атмосферного. Расходы аргона варьировали в пределах 4–5 л/мин. Расход перегретого пара в режиме обработки воды поддерживали на уровне 11 л/мин. Отработавший аргон и часть водяного пара вытесняются из объема камеры через патрубок в кожухо-трубный холодильник, из которого конденсат активированного пара возвращается в камеру, а аргон – в атмосферу.

Камеру реактора наполняли дистиллированной водой двойной перегонки объемом 2,3 л. ПАВ после окончания обработки сливали через дренажный патрубок. Через кварцевое смотровое окно в камере вели наблюдение и проводили спектральные измерения оптической эмиссии факела спектрометрами AvaSpec-2048 и AvaSpec-3648. После обработки плазмой воду сливали в пластиковые емкости и хранили до использования в холодильнике. Концентрацию раствора H_2O_2 измеряли колориметрическим методом цифровым тестером-фотометром Water-i.d. PoolLab 1.0 в диапазоне 0,0 - 2,9 мг/л с таблетками стандартного реагента PoolLab Peroxide LR. При концентрациях $[H_2O_2]$ выше предела измерения, раствор кратно разводили.

В качестве тест-объекта выбраны семена огурца «Конкурент» с пониженной всхожестью (результат длительного хранения). Семена по 30 штук раскладывали в чашки Петри на фильтры, однократно увлажненные в опыте исследуемыми растворами, в контроле дистиллированной водой.

Исследовали влияние чистых растворов СВЧ-ПАВ без примеси NO_x (растворы H_2O_2 , получаемые при обработке водяного пара СВЧ-плазмой), медицинского 3%-пероксида водорода (МПВ) и дистиллированной воды (ДВ) в контроле.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

МПВ разводили дистиллированной водой до концентрации, близкой к разведениям СВЧ-ПАВ. Чашки Петри выставляли в термостат с температурой $+20^\circ C$ для изучения эффективности действия растворов на прорастание семян.

Прорастание семян проходит пять последовательных стадий, которые имеют свою продолжительность, биохимические и морфологические изменения семени (рис. 1):

(1) водопоглощение; (2) набухание, заканчивающееся наклеиванием; (3) рост первичного корешка; (4) развитие ростка; (5) формирование проростка. Для удобства наблюдения активации семян мы свели стадии к трем визуально наблюдаемым состояниям, когда:

на 2-е сутки у семян фиксируется корень ≤ 3 мм

на 3-е сутки у семян лопнула семенная оболочка

на 4-е сутки у проростков фиксируются свободные семядольные листья.

Результаты подсчета семян в перечисленных состояниях n по отношению к начальному числу $n_0 = 30$ штук в % приведены на рисунках 2 и 3 для СВЧ-ПАВ и МПВ в зависимости от порядкового номера суток, концентрация пероксида водорода является параметром зависимостей. Также представлены результаты по стадиям прорастания семян в дистиллированной воде – контроль.



Рисунок 1. Стадии прорастания семян огурца

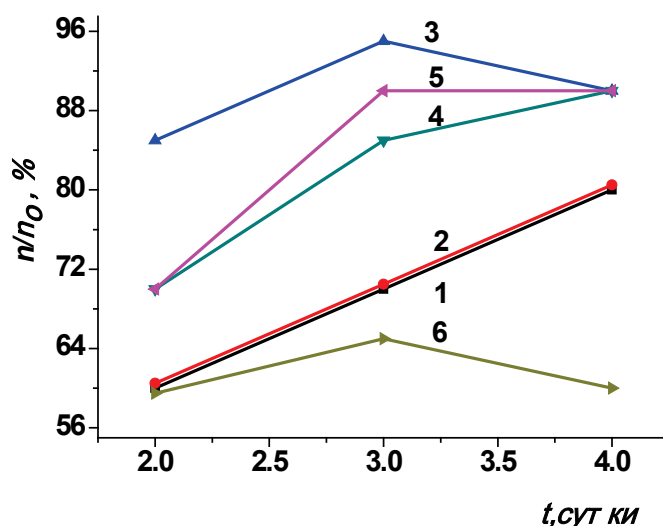


Рисунок 2. Динамика прорастания семян в растворах СВЧ-ПАВ с чистым пероксидом водорода разных разведений. На графике кривые соответствуют следующим концентрациям H₂O₂: 1 – 10 мг/л; 2 – 3,3 мг/л; 3 – 1,7 мг/л; 4 – 0,33 мг/л; 5 – 0,1 мг/л; 6 – контроль (дистиллированная вода)

Ранее [4] было показано, что между эндогенными регуляторами роста и развития растений H₂O₂ и NO_x существует тесное взаимодействие.

Пероксид водорода принадлежит к активным формам кислорода (АФК), он выполняет многофункциональную роль клеточного метаболита, участвующего в физиологических процессах развития растений. Активация семян, развитие корневой системы, процесс апоптоза. Показана существенная роль пероксида в процессах фотосинтеза [5], а также его свойство менять состав внутриклеточной воды, повышая количество связанной воды, выполнять роль антистрессового агента [6], повышая устойчивость растений к засухе, холоду, засолению почв [7].

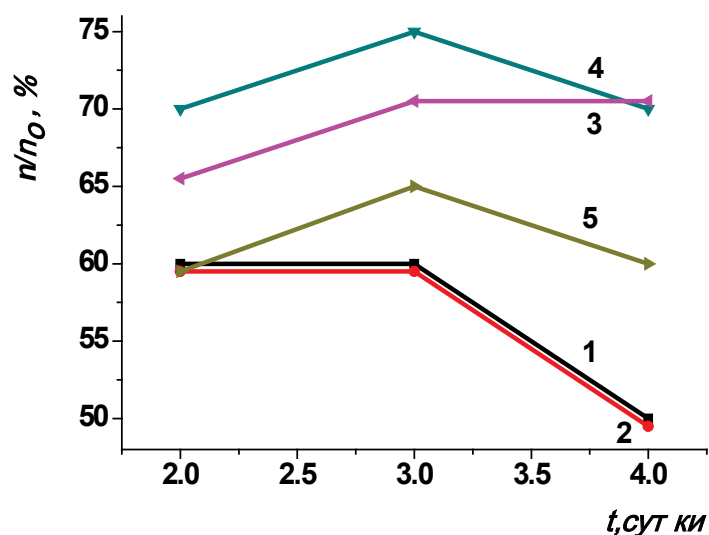


Рисунок 3. Динамика прорастания семян в растворах МПВ со стабилизатором разных разведений. На графике кривые соответствуют следующим концентрациям H₂O₂: 1 – 10 мг/л; 2 – 3,3 мг/л; 3 – 0,33 мг/л; 4 – 0,1 мг/л; 5 – контроль (дистиллированная вода)

Существуют свидетельства в пользу того, что оксид азота NO_x , также как H_2O_2 , участвует в регуляции процессов роста и развития растений: прорастание семян, цветение, развитие корней, созревание, проявляет себя регулятором передачи сигналов, повышает устойчивость растений к болезням и к различным абиотическим стрессам. NO_x , как и H_2O_2 , влияет на клеточный метаболизм [4].

Между H_2O_2 и NO_x имеет место перекрестные взаимодействия в передаче сигналов [4], которые являются комплексным фактором регулирования развития растений. Пероксид может действовать как кофактор, способствующий эндогенному синтезу NO_x , а с другой стороны, NO_x может способствовать образованию пероксида в растениях и ингибировать его эндогенную генерацию. Пероксид и оксид азота, взаимодействуя, влияют на жизнедеятельность растений.

Нами показано, что общим свойством прорастания семян огурца пониженной всхожести в растворах СВЧ-ПАВ, МПВ и дистиллированной воде (контроль) является положительная динамика развития между первой и второй стадиями (2-ми и 3-ми сутками) за исключением задержки освобождения семян от оболочки в более концентрированных растворах МПВ (рис. 3, кривые 1,2), что происходит с заметным отставанием от семян в контроле с водой (кривая 5).

Наблюдается общая тенденция к замедлению развития проростков между 3-ми и 4-ми сутками, что может объясняться физиологическими причинами, увеличением объема проростков из-за деления клеток и естественного истощения пероксида.

Что касается растворов МПВ (рис. 3), то очевидно, что более высокие его концентрации (рис. 3, кривая 1 и 2) дают худший результат по сравнению с контролем (рис. 3, кривая 5). При снижении начальной концентрации пероксида водорода в растворах МПВ до значений близких к концентрации СВЧ-ПАВ получен похожий результат по увеличению числа проросших семян и тенденции их развития. Результаты по семенам пониженной всхожести огурца «Конкурент» оказываются ниже (до 20%) по сравнению с всхожестью семян в растворах СВЧ-ПАВ эквивалентных концентраций.

Показано, что всхожесть семян и развитие проростков в растворах СВЧ-ПАВ достигает 95%. Низкие показатели прорастания семян и развития проростков в растворах МПВ видимо связаны с присутствием стабилизатора (бензоата натрия) в его составе, который по своему назначению блокирует катализаторы распада пероксида.

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования убедительно показывают на примере прорастания семян огурца высокую эффективность применения экологически чистого водного раствора пероксида водорода как стимулятора роста и развития растений. Представляется целесообразным дальнейшее развитие данного направления в интересах растениеводства на примере других сельскохозяйственных культур.

Список литературы / References:

1. Сергейчев К.Ф., Лукина Н.А., Апашева Л.М., Овчаренко Е.Н., Лобанов А.В. Вода, активированная струей аргоновой СВЧ-плазмы, как фактор, стимулирующий прорастание семян растений. *Химическая физика*, 2022, т. 41, № 1, с. 60-65 [Sergeychev K.F., Lukina N.A., Apasheva L.M., Ovcharenko E.N., Lobanov A.V. [Sergeychev K.F., Lukina N.A., Apasheva L.M., Ovcharenko E.N., Lobanov A.V. Voda, aktivirovannaya struyoy argonovoy SVCH-plazmy, kak faktor, stimulyacii prorastanie semyan rasteniy. *Khimicheskaya fizika*, 2022, vol. 41, no. 1, pp. 60-65 (In Russ.)].
2. Сергейчев К.Ф., Апашева Л.М., Лукина Н.А., Будник М.И., Овчаренко Е.Н., Лобанов А.В. Вода, активированная СВЧ-плазмой, как регулятор роста хвойных. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2022, т. 7, № 3, с. 369-373 [Sergeychev K.F., Apasheva L.M., Lukina N.A., Budnik M.I., Ovcharenko E.N., Lobanov A.V. Voda, aktivirovannaya SVCH-plazmoy, kak regulyator rosta khvoynykh. *Aktualnye voprosy biologicheskoy fiziki i khimii*, 2022, vol. 7, no. 3, pp. 369-373, doi: 10.29039/rusjbpс.2022.0528 (In Russ.)].
3. Сергейчев К.Ф., Хаваев В.Б., Лукина Н.А. Способ СВЧ-плазменной активации воды для синтеза пероксида водорода и устройство для его осуществления. Патент РФ № 2761437, 2022 [Sergeychev K.F., Navaev V.B., Lukina N.A. *Sposob SVCH-plazmennoy aktivatzii vody dlya sinteza peroksida vodoroda i ustroystvo dlya ego osushchestvleniya*. Patent RF № RU 2761437, 2022 (In Russ.)].
4. Niu L., Liao W. Hydrogen Peroxide Signaling in Plant Development and Abiotic Responses: Crosstalk with Nitric Oxide and Calcium. *Front. Plant Sci., Sec. Plant Physiology*, 2016, vol. 7, doi: 10.3389/fpls.2016.00230.
5. Комиссаров Г.Г. *Фотосинтез: физико-химический подход*. М.: Эдиториал УРСС, 2003, 224 с. [Komissarov G.G. *Photosyntezy: fiziko-hemicheskij podhod*. М.: Editorial URSS, 2003, 224 p. (In Russ.)].
6. Апашева Л.М., Лобанов А.В., Комиссаров Г.Г. Изменение структуры внутриклеточной воды под действием пероксида водорода. *Материалы V съезда биофизиков России*, 2015, т. 2, с. 73 [Apasheva L.M., Lobanov A.V., Komissarov G.G. *Izmenenie struktury vnutrikletochnoy vody pod deystviem peroksida vodoroda*. *Materialy V Sezda biophysikov Rossii*, 2015, vol. 2, pp. 73 (In Russ.)].
7. Апашева Л.М., Комиссаров Г.Г., Сахаров А.М., Сахаров П.А. Способ повышения солеустойчивости растений (варианты). Патент РФ № 2445759, 2010 [Apasheva L.M., Komissarov G.G., Saharov A.M., Saharov P.A. *Sposob povysheniya soleustoychivosti rasteniy (versii)*. Patent RF № 2445759, 2010. (In Russ.)]

**INFLUENCE OF SOLUTIONS OF HYDROGEN PEROXIDE OF DIFFERENT COMPOSITIONS
ON THE SEEDS GERMINATION****Sergeychev K.F.¹, Lukina N.A.¹, Apasheva L.M.², Budnik M.I.², Ovcharenko E.N.²**¹A.M. Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences
*Vavilova str., 38, Moscow, 119991, Russia*²N.N. Semenov Federal Research Centre for Chemical Physics of the Russian Academy of Sciences
Kosygina str., 4, Moscow, 119991, Russia; e-mail: ziraf@mail.ru

Received 18.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0614

Abstract. A method has been developed for producing pure hydrogen peroxide without admixture of NO_x by replacing the nitrogen medium stabilizing the flare microwave discharge with water vapor when distilled water and its vapor at atmospheric pressure are treated with pure inert argon plasma. The dynamics of seed germination and development of cucumber seedlings in pure solutions of hydrogen peroxide, in solutions of medical 3% hydrogen peroxide stabilized with sodium benzoate, and in distilled water in the control were studied. The concentrations of hydrogen peroxide solutions in the range from 0,1 mg/l to 10 mg/l were used. Cucumber seeds «Competitor» with reduced germination (the result of long-term storage) were selected as a test object. Seeds of 30 pieces were placed in Petri dishes on filters, moistened once in the experiment with the studied solutions, and in the control with distilled water. It is shown that the germination of seeds and the development of seedlings in pure solutions of hydrogen peroxide reaches 95% at a concentration of hydrogen peroxide of 1,7 mg/l, while when using medical peroxide, the same indicator was 75% at a concentration of 0,1 mg/l. Higher concentrations of medical peroxide gave the worst result, in particular, concentrations of 3,3 mg/l and 10 mg/l led to inhibition of the seed germination process and showed the worst result.

Key words: *plasma, stimulation, nitrogen, hydrogen peroxide, seeds.*