

Влияние водных дисперсных систем с наночастицами серебра и меди на прорастание семян

С. Н. Маслоброд^а, Ю. А. Миргород^б, В. Г. Бородина^б, Н. А. Борщ^б

^аИнститут генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы,
ул. Пэдурий, 20, г. Кишинев, MD-2002, Республика Молдова, e-mail: maslobrod37@mail.ru

^бФедеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования «Юго-Западный государственный университет»,
ул. 50 лет Октября, 94, г. Курск, 305040, Россия, e-mail: yu_mirgorod@mail.ru

При замачивании семян злаковых и овощных культур (пшеницы, тритикале, томата) в водных дисперсных системах с разной концентрацией наночастиц серебра (NPAg) и меди (NPCu) существенно изменяются энергия прорастания и всхожесть семян, рост проростков и число морфологически правых проростков. Эффект зависит от типа наночастиц, их концентрации, экспозиции и генотипа семян. Обнаружен стимуляционный эффект при использовании ультранизких концентраций NPAg (до 10^{-8} моль/л) и NPCu (до 10^{-17} мг/л). Обработка семян золом способствует повышению их устойчивости к патогенным грибам, вызывающим корневые гнили у проростков. В результате предпосевного замачивания семян тритикале в водной дисперсии с низкой концентрацией NPAg ($16 \cdot 10^{-7}$ моль/л) установлено существенное (на 56%) повышение продуктивности растений в полевых условиях.

Ключевые слова: водные дисперсные системы, наночастицы серебра и меди, ультранизкие концентрации, энергия прорастания и всхожесть семян, длина ростка и корешка проростка, правые проростки, патогенные грибы, пониженная температура, устойчивость и продуктивность растений.

УДК 58.037+58.04+632.116+632.3+581.48+633.11+635.64

ВВЕДЕНИЕ

Проблемы влияния техногенных наночастиц на жизнедеятельность живых организмов, в том числе растений, приобретают особую остроту в связи с современным развитием и внедрением нанотехнологий. Отметим, что именно растительным объектам было отдано предпочтение в опытах по биотестированию наночастиц [1–4], поскольку они обладают чрезвычайно высокой чувствительностью к внешним слабоинтенсивным факторам, иногда на порядок превышающей чувствительность объектов животного происхождения. Кроме того, характеризуются малогабаритностью (например, семена), огромным генетическим и морфологическим разнообразием. С помощью экономичных и оперативных приемов можно в достаточном количестве получать генетически и морфологически выровненный материал. Это позволяет использовать растения в скрининг-исследованиях для оценки специфичности воздействия наночастиц и их дозозависимые эффекты. Таким образом, растения можно рассматривать в качестве индикатора экотоксичности наночастиц и объекта, на который они действуют положительно, повышая его жизнеспособность.

К сожалению, имеющиеся литературные сведения по этому вопросу либо крайне противоречивы, либо трудно сопоставимы как по дозам и

размерности наночастиц, так и по видам растений [1–11]. Вместе с тем необходимость и важность таких исследований очевидны, так как растения составляют основание «пищевой пирамиды», а сохранение оптимальной экологии полноценной «пищевой цепочки», включая человека, – актуальная задача современной науки и природопользования [1–6].

Следует подчеркнуть, что в последние десятилетия селекционеры и генетики растений проявляют повышенный интерес к продуктам нанотехнологии – нанопорошкам металлов, которые оказывают отчетливо выраженные бактерицидное и фунгицидное действия на растительный объект [1–6]. Кроме того, они «работают» и как микроэлементы минерального питания растений пролонгированного действия, повышающих адаптивный потенциал растительного организма (его продуктивность и экологическую устойчивость) [2–6].

Наночастицы металлов электронейтральны, что позволяет им равномерно распределяться в пленкообразователе и тонким слоем обволакивать семена, обеспечивая их надежную защиту от патогенов. Постепенно окисляясь в почве, они создают неблагоприятные условия для патогенных микроорганизмов и в то же время поглощаются растениями как микроэлементы в процессе роста [6, 7].

Нанопорошки металлов, благодаря их чрезвычайно огромной удельной поверхности (порядка нескольких сотен квадратных метров на 1 г), можно эффективно использовать в микродозах. Так, для предпосевной обработки 1 т семян используется всего несколько миллиграммов нанопорошка [5–8]. Это одновременно обеспечивает экологическую безопасность как среды, так и биопродукта. Токсичность нанопорошков металлов в 10–40 раз меньше, чем токсичность солей этих же металлов [5, 6].

Воздействие на семена растений продовольственного, лекарственного и технического назначения дисперсными системами, содержащими нанопорошки металлов, существенно повышает энергию прорастания семян, их полевую всхожесть, ростовую активность проростков и выживаемости растений, что положительно сказывается на всех элементах структуры урожая. Как известно, урожай пшеницы может повышаться до 15%, зеленой массы – до 25, картофеля – до 30% [1–6, 8, 9]. У подсолнечника, рапса, горчицы существенно повышается содержание масла [8–10].

Предпосадочная обработка клубней картофеля ультрадисперсными порошками и солями железа и меди положительно влияет на их урожайность [9]. Показана эффективность препаратов на основе нанопорошков металлов и водорастворимых полимеров [11–14]. Эффективно также совместное применение нанопорошков металлов и пестицидов [12–13]. Показано своеобразие действия наночастиц диоксида титана и оксида алюминия – отсутствие реакции у одних видов растений (фасоли) и наличие специфической реакции у других (у пшеницы повысились урожай и синтез пигментов, у амаранта – синтез амарантина [14]). Опрыскивание вегетирующих растений водными дисперсиями наночастиц также положительно сказывается на продуктивности растений [14, 15]. Обработка последних препаратами, содержащими ультрадисперсные порошки металлов, эффективна для овощных культур. В защищенном грунте опрыскивание растений усиливает их иммунную систему, способствует снижению заболеваний пероноспорозом и гнилями, увеличению урожайности и получению высококачественной продукции [12].

Предпосевное замачивание семян в суспензии ультрадисперсного порошка металлов влияет на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях из клеток корней проростков и на фотохимическую активность хлоропластов из листьев в разные фазы онтогенеза. При этом происходит стимуляция активности биоэнергетических систем клеток, что способствует усилению роста и повышению активности фотосинте-

тических процессов [15]. Биологический эффект нанометаллов зависит от: концентрации наночастиц, способа их получения, природы металлов, экспозиции воздействия наночастиц на растительный объект, их формы и размера, генотипа объекта и его состояния, фазы онтогенеза растений и др. [1–11].

Исследований по оптимальному режиму стимулирующего действия нанопорошков металлов на семена и вегетирующие растения крайне недостаточно. Детально и методически грамотно не изучен ни один из перечисленных факторов. В связи с этим остается ещё много вопросов в отношении механизма действия наночастиц металлов на растительный объект.

В данной работе была поставлена задача изучить, как влияют различные концентрации и экспозиции дисперсии, содержащей наночастицы серебра и меди, на жизнеспособность семян некоторых зерновых и овощных культур в норме и при действии неблагоприятных биотических факторов (патогенных грибов). Проведен проверочный опыт в полевых условиях по оценке эффективности предпосевной обработки семян озимого тритикале водной дисперсией наночастиц серебра с концентрацией, стимуляционной в условиях лабораторного опыта.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Наночастицы серебра (NPAg) получали восстановлением ионов серебра экстрактом листьев чая при комнатной температуре [16]. Элементный анализ порошка NPAg осуществляли с использованием атомно-абсорбционного спектрометра Квант-Z. В нанопорошке содержалось 95–98% серебра. Размеры NPAg определяли с помощью зондового атомно-силового микроскопа. Их размеры составили 35–60 нм в диаметре.

Для получения наночастиц меди (NPCu) к 10 мл 2М водного раствора гидразина $\text{NH}_2\text{-NH}_2$, содержащего 0,0006М лимонной кислоты (или глицерина и глюкозы) и 0,006М цетилпиридиний хлорида, добавляли 10 мл 0,02М CuCl_2 , содержащего 0,0006М лимонной кислоты (или глицерина и глюкозы) и 0,006 М ЦПХ, при интенсивном перемешивании и комнатной температуре. В течение всего эксперимента через реакционную смесь пропускали азот во избежание окисления наночастиц меди. Реакция происходит за 2,5 часа. Получали 20 мл темно-красной коллоидной дисперсии. Ее разбавляли 2 раза дистиллированной водой, переносили в кювету и регистрировали видимый спектр поглощения. Спектр имеет полосу поглощения с максимумом 570 нм. Согласно литературным данным, полоса поглощения соответствует поверхностному плазменному

резонансу наночастиц меди. Со временем дисперсия мутнеет, указывая на быструю агрегацию наночастиц. Для исследования на дифрактометре коллоидный раствор, содержащий частицы меди, центрифугировали и выделяли из него осадок, который сушили под вакуумом. На дифрактограмме медьсодержащего образца присутствуют дифракционные максимумы при углах 2θ : 43,4; 52,0; 76,4, что подтверждает наличие металлической меди в образце (JCPDS 4-0836) [17].

Во избежание быстрого окисления полученные наночастицы меди (с размером 2–3 нм) покрывали пленкой из полипирролома, благодаря чему NPCu окисляются постепенно, по мере растворения пленки, что обеспечивает пролонгированность действия нанофактора на семена и необходимость продолжительной экспозиции (6 час).

Общий вид NPCu и NPAg представлен на рис. 1.

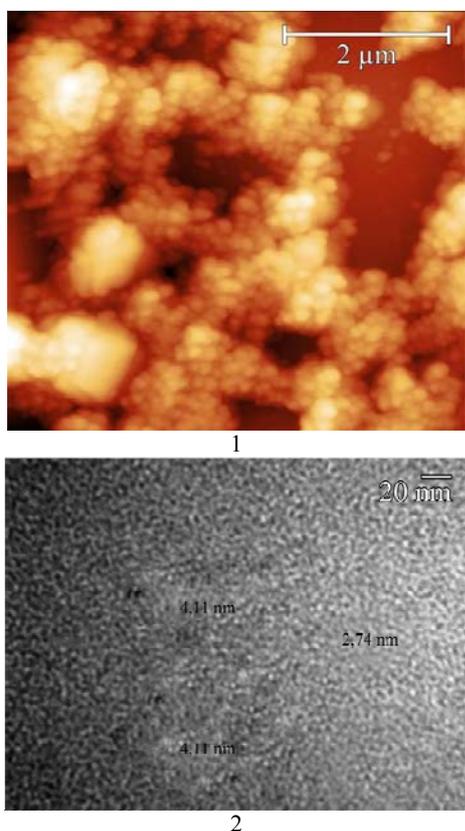


Рис. 1. Общий вид наночастиц серебра (1) и меди (2), использованных в настоящих опытах [16, 17].

Объектами исследования служили семена: 1) зерновых растений – озимого тритикале (сорт Инген-93), озимой пшеницы (сорт Н335) и яровой пшеницы (сорт Арнаутка 7); 2) овощных растений – томата (сорта Юбилейный, Микаэлла, Сюрприз). Сорты растений созданы в Институте генетики, физиологии и защиты растений АН РМ и районированы в Молдове; репродукция семян, использованных в опытах, 2011 года. Отмеченные объекты подвергали воздействию водной

дисперсии нанопорошка серебра, а водной дисперсией нанопорошка меди воздействовали только на семена злаковых растений.

Семена замачивали: 1) в водной дисперсии наносеребра с концентрациями от $2 \cdot 10^{-4}$ до $32 \cdot 10^{-8}$ моль/л (с 5-кратным разбавлением каждого последующего варианта) и экспозициями 5, 30, 60 и 180 мин; 2) в водной дисперсии наномеди с концентрациями от $2 \cdot 10^{-4}$ мг/л и далее с 5-кратным разбавлением каждого последующего варианта до $2,56 \cdot 10^{-9}$ мг/л и 6-часовой экспозицией замачивания в них семян; в другом опыте применяли концентрации от 10 до 10^{-19} мг/л с 10-кратным разбавлением каждого варианта.

Семена злаковых растений обрабатывали грибом *Helminthosporium avenae*, семена овощных растений – грибом *Alternaria alternate*. Эти грибы – основные патогены для семян злаковых и овощных культур [18]. Они вызывают корневые гнили у проростков, что резко снижает урожай и его качество. Для грибов экспозиция воздействия на семена составляла 18 час. Для сравнения в качестве дезинфицирующего средства использовали 1% раствор перманганата калия при экспозиции 1 час. После предпосевной обработки семена проращивали на дистиллированной воде в чашках Петри в диапазоне температур 18–25°C в термостате. В каждом варианте опытов брали по 100–300 семян. Учитывали энергию прорастания семян (число проросших семян: злаковых – на 2-й день, овощных – на 5-й) и их схожесть (на 7–14-й день), длину ростка, длину главного корешка и число правых проростков у злаковых (у них первый лист заворачивается по часовой стрелке) [21]. Среднеквадратичная ошибка отклика объекта на воздействие не превышала 3–5%.

При проведении полевого опыта семена тритикале (сорт Инген-93) замачивали в водной дисперсии наносеребра с концентрацией $16 \cdot 10^{-7}$ моль/л и экспозицией 1 час. Их высаживали осенью 2012 года на полевом участке Института генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы в трех повторностях (учетная делянка 4 м²). Определяли число всходов (спустя 30 дней после посева). Летом 2013 года проводили уборку и оценивали элементы структуры урожая.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Опыты с использованием водной дисперсии наночастиц серебра. Оценка влияния концентраций и экспозиций воздействия

В опыте с семенами томата (сорт Микаэлла) были апробированы концентрации NPAg от $2 \cdot 10^{-4}$ до $16 \cdot 10^{-7}$ моль/г и экспозиции 5, 30, 60 и

180 мин при температуре проращивания семян +25°C.

Как видно из табл. 1, длина ростка проростка существенно увеличивается по сравнению с контролем с концентрациями дисперсий $4 \cdot 10^{-5}$, $16 \cdot 10^{-7}$ и $2 \cdot 10^{-4}$ мг/л при экспозициях соответственно 3, 1 час и 30 мин. Данные варианты превышали контроль соответственно на 7,6, 10,0 и 9,8%.

Таким образом, на биоэффект положительно повлияли как концентрация NPAg в дисперсии, так и экспозиция. По результатам опыта с точки зрения технологичности и экономичности лучшим вариантом можно считать концентрацию NPAg $16 \cdot 10^{-7}$ мг/л при экспозиции 1 час.

Оценка фунгицидного действия NPAg на семена овощных и зерновых культур

С учетом прежних данных использовали экспозицию 1 час и три концентрации NPAg $8 \cdot 10^{-6}$; $16 \cdot 10^{-7}$ и $32 \cdot 10^{-8}$ мг/л. Температура проращивания семян 25°C. В опытах совместного действия факторов вначале их обрабатывали дисперсией NPAg, а затем грибом. В опыте с семенами разных сортов томата получено следующее (табл. 2).

Обнаружено влияние генотипа (сортов) на биоэффект. По параметру «длина корешка» при действии дисперсии NPAg на семена лучшие показатели у сорта Юбилейный – стимуляция по двум концентрациям дисперсии наносеребра – $8 \cdot 10^{-6}$ и $16 \cdot 10^{-7}$ мг/л. У семян сорта Микаэлла стимуляция отсутствует, а наблюдается даже ингибирование. У семян сорта Сюрприз получена стимуляция при концентрации NPAg $16 \cdot 10^{-7}$ мг/л на 18%. Гриб отрицательно повлиял на прорастание семян всех трех генотипов. $KMnO_4$ оказал положительное влияние на семена сорта Юбилейный. Действие на семена дисперсии NPAg и $KMnO_4$ до заражения их грибом оказалось неэффективным. Длина корешка у проростков была резко сниженной по сравнению с контролем и находилась на уровне раздельного действия гриба. В то же время предварительная обработка семян сорта Юбилейный дисперсией, содержащей NPAg в концентрации $8 \cdot 10^{-6}$ и $32 \cdot 10^{-8}$ моль/л, приводит к существенному фунгицидному эффекту (критерий Стьюдента в сравнении с вариантом «Гриб» – 3,47 и 4,64).

В опытах с семенами тритикале и пшеницы использовались те же варианты, что и в опытах с семенами томата (табл. 1, 2). Здесь также обнаружено влияние генотипа (сортов) объекта на биоэффект (рис. 2).

В данных опытах прежде всего ставилась задача – оценить эффекты от действия нанофактора на семена с разной исходной всхожестью –

высокой (кондиционные семена) и низкой (некондиционные семена). Исходная всхожесть семян тритикале (сорт Инген-93) составила 90%, семян пшеницы (сорта Н335 и Арнаутка 7) – соответственно 75 и 68%. Были использованы параметры, характеризующие начальные процессы прорастания семян (число проклюнувшихся и проросших семян), то есть параметры энергии прорастания и всхожести последних. Учитывали три срока прорастания семян после их обработки факторами. Как видно из рис. 2, особенно отчетливо видны различия между вариантами в начальный период регистрации параметра. У всех генотипов грибок в несколько раз подавляет процесс прорастания семян, подавляют его и $KMnO_4$, частично – NPAg. Но наблюдается и стимуляция от NPAg – у тритикале (при концентрации NPAg $16 \cdot 10^{-7}$ и $32 \cdot 10^{-8}$ моль/л), а также у озимой и яровой пшеницы (при концентрации NPAg $32 \cdot 10^{-8}$ моль/л). $KMnO_4$ вызывал ингибирующий эффект. Фунгицидное действие NPAg (при сравнении с вариантом «грибок») получено у всех генотипов, в особенности у тритикале и озимой пшеницы. На третий и четвертый день произошло сглаживание вариантов у генотипа тритикале и имело место сохранение фунгицидного эффекта у пшеницы.

Обращает на себя внимание разный характер отклика генотипов на нанофактор. Четкая начальная стимуляция от NPAg получена у семян тритикале, затем – у семян яровой пшеницы и далее – у семян озимой пшеницы. Отмеченные особенности сохранились в последующие сроки прорастания. При этом исходная всхожесть семян тритикале повысилась благодаря NPAg на 7–8%, Арнаутки 7 – на 8–10, а у Н335 она даже снизилась на 4–16%.

Следовательно, стимуляционный и фунгицидный эффекты от обработки семян дисперсиями с наночастицами серебра существенно зависят от их кондиционности (исходной всхожести) и от генотипа (низкая исходная всхожесть семян не всегда гарантирует положительный эффект от воздействия внешнего фактора).

В этом же опыте был продолжен анализ реакции семян на действие нанофактора, гриба и перманганата калия с учетом длины ростков 7-дневных проростков (табл. 3).

При раздельном действии на семена дисперсии NPAg у семян тритикале стимуляция роста получена по всем трем концентрациям. Наибольшая стимуляция роста (на 15–19%) наблюдалась в варианте $16 \cdot 10^{-7}$ мг/л у семян тритикале и озимой пшеницы; кроме того, у семян озимой пшеницы – при концентрации $32 \cdot 10^{-8}$ мг/л NPAg. У семян яровой пшеницы стимуляция полностью отсутствовала. Грибок отрицательно повлиял только на семена яровой пшеницы.

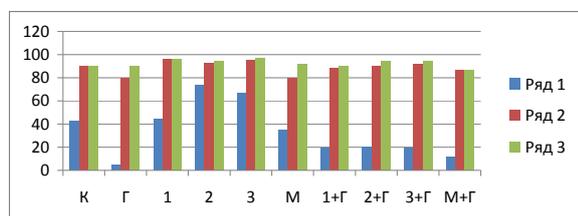
Таблица 1. Длина корешка проростка томата (сорт Микаэлла) при действии на семена водных дисперсий NPAg разной концентрации и разной экспозиции

Концентрация NPAg, моль/л	Экспозиция NPAg, мин	Длина корешка, мм	Экспозиция NPAg, мин	Длина корешка, мм
$2 \cdot 10^{-4}$	5	$45,58 \pm 0,78$	60	$37,89 \pm 1,12^{***}$
$4 \cdot 10^{-5}$		$45,74 \pm 0,88$		$46,79 \pm 0,78$
$8 \cdot 10^{-6}$		$45,30 \pm 0,68$		$44,40 \pm 0,75$
$16 \cdot 10^{-7}$		$43,54 \pm 0,74$		$49,86 \pm 0,82^{***}$
$2 \cdot 10^{-4}$	30	$49,74 \pm 0,79^{***}$	180	$46,96 \pm 0,83$
$4 \cdot 10^{-5}$		$45,58 \pm 0,84$		$48,74 \pm 0,82^{**}$
$8 \cdot 10^{-6}$		$46,93 \pm 1,69$		$45,20 \pm 0,73$
$16 \cdot 10^{-7}$		$44,06 \pm 0,86$		$41,32 \pm 0,87^{**}$
Контроль	0			$45,29 \pm 0,85$

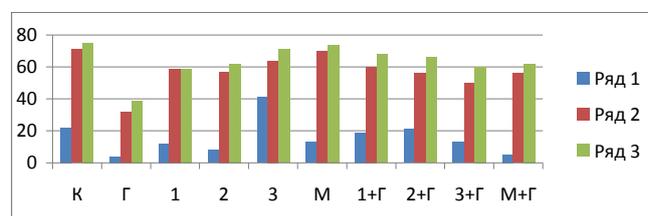
*, **, *** здесь и далее различия существенны по отношению к контролю соответственно при 5%, 1% и 0,1% уровнях значимости.

Таблица 2. Длина корешка проростка разных сортов томата при действии на семена водных дисперсий NPAg разной концентрации

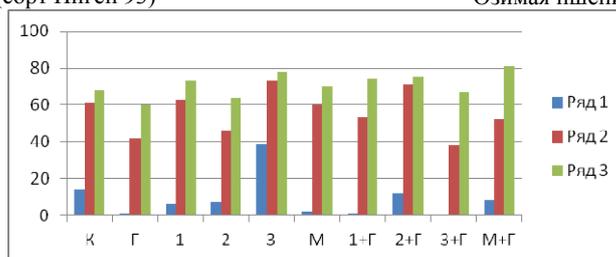
№ п/п	Вариант	Юбилейный	Микаэлла	Сюрприз
1	Контроль	$44,60 \pm 1,74$	$45,00 \pm 1,20$	$54,02 \pm 1,50$
2	Гриб	$7,80 \pm 0,31^{***}$	$8,26 \pm 0,38^{***}$	$12,45 \pm 0,54^{***}$
3	$8 \cdot 10^{-6}$ моль/л	$48,21 \pm 1,81^*$	$42,87 \pm 1,14$	$51,15 \pm 1,71$
4	$16 \cdot 10^{-7}$ моль/л	$50,65 \pm 1,88^*$	$40,20 \pm 1,17^*$	$58,46 \pm 1,55^*$
5	$32 \cdot 10^{-8}$ моль/л	$46,84 \pm 1,79$	$39,95 \pm 0,95^{**}$	$54,57 \pm 1,49$
6	KMnO ₄	$48,37 \pm 1,54$	$47,23 \pm 1,39$	$53,29 \pm 1,53$
7	$8 \cdot 10^{-6}$ моль/л + Гриб	$9,71 \pm 0,46^{***}$	$7,89 \pm 0,38^{***}$	$10,10 \pm 0,40^{***}$
8	$16 \cdot 10^{-7}$ моль/л + Гриб	$7,68 \pm 0,31^{***}$	$8,31 \pm 0,34^{***}$	$7,95 \pm 0,34^{***}$
9	$32 \cdot 10^{-8}$ моль/л + Гриб	$10,49 \pm 0,49^{***}$	$7,61 \pm 0,32^{***}$	$10,58 \pm 0,49^{***}$
10	KMnO ₄ + Гриб	$15,28 \pm 0,90^{***}$	$13,44 \pm 0,69^{***}$	$11,42 \pm 0,83^{***}$



Озимое тритикале (сорт Инген 93)



Озимая пшеница (сорт H335)



Яровая пшеница (сорт Арнаутка 7)

Рис. 2. Число проросших семян злаковых растений при раздельном и совместном действии дисперсий NPAg, гриба *Alternaria alternate* и KMnO₄, %. К – контроль; Г – гриб; 1, 2, 3 – концентрации NPAg соответственно $8 \cdot 10^{-6}$, $16 \cdot 10^{-7}$, $32 \cdot 10^{-8}$ моль/л; М – KMnO₄; Ряд 1, 2, 3 – число проросших семян соответственно на второй, третий и четвертый дни после обработки факторами.

При совместном действии дисперсии NPAg и гриба были получены неожиданные результаты. Рост проростков тритикале при обработке семян NPAg после действия на них гриба даже усилился по сравнению с контролем при всех концентрациях (на 4–15%). Эффект усиления был присут и проросткам озимой пшеницы для двух концентраций (на 18–26%). В то же время и в семенах яровой пшеницы дисперсии наночастиц

серебра помогли преодолеть ингибирующее действие гриба, причем активность роста проростков в варианте $\ll 8 \cdot 10^{-6}$ мг/л + Гриб \gg превысила контроль на 12%.

Таким образом, было выявлено положительное влияние дисперсии наночастиц серебра на рост проростков. Причем четкая стимуляция наблюдалась даже при самой низкой концентрации NPAg ($32 \cdot 10^{-8}$ моль/л), что является предпо-

сылкой для продолжения опыта с использованием еще более низких концентраций NPAg. Следует подчеркнуть наличие четко выраженного фунгицидного действия NPAg на семена зерновых культур. Для этих же семян традиционный метод обеззараживания семян с помощью перманганата калия оказался совершенно неэффективным.

ОПЫТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВОДНОЙ ДИСПЕРСИИ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ

Оценка влияния концентраций наночастиц в дисперсии

Выше показано, что у злаковых растений наблюдались четкие стимуляционный и фунгицидный эффекты от сверхнизких концентраций NPAg в водной дисперсии. Была поставлена задача - проверить наличие стимуляционного эффекта при действии на семена сверхнизких концентраций NPCu. Оценивалось влияние водных дисперсий NPCu с концентрациями от 10^1 до 10^{-19} мг/л (с уменьшением концентраций каждого варианта на два порядка) на всхожесть семян пшеницы Арнаутка 7 при экспозиции замачивания семян в дисперсии в течение 6 час. Объект выбрали из соображений, что семена Арнаутки 7 с низкой исходной всхожестью реагируют на воздействие дисперсии NPAg повышением всхожести (рис. 2). Получена нелинейная зависимость всхожести от концентрации наночастицы (рис. 3). При этом ингибирующий эффект отсутствует. Обнаружена существенная стимуляция всхожести по сравнению с контролем (на 12,3%) в варианте ультранизкой концентрации (10^{-17} мг/л). Соответствующие значения параметра – $(70,0 \pm 1,90)\%$ и $(57,7 \pm 4,12)\%$, причем следующая за ней концентрация (10^{-19} мг/л) показала результат на уровне контроля $(57,6 \pm 5,53)\%$. Полученные данные свидетельствуют о чрезвычайно высокой чувствительности семян яровой пшеницы Арнаутка 7 к сверхнизким концентрациям наночастиц металлов (в нашем случае серебра и меди) в водной дисперсии, в которой они замачиваются. По данным [1–6], порог чувствительности семян показан только до концентрации 10^{-7} мг/л нанометаллов в дисперсии.

Оценка фунгицидного действия дисперсий с разными концентрациями NPCu и на семена зерновых культур

Изучали влияние дисперсий нанопорошка меди, гриба *Helminthosporium avenale* и перманганата калия на энергию прорастания семян и линейные размеры проростков озимого тритикале (сорт Инген-93). Использовались девять концен-

траций раствора нанопорошка меди (от $1 \cdot 10^{-3}$ до $2,56 \cdot 10^{-13}$ мг/л).

По энергии прорастания семян обнаружена общая стимуляция при действии на них дисперсий NPCu (рис. 4). Наибольший эффект получен при концентрации NPCu $32 \cdot 10^{-8}$ мг/л (прибавка по сравнению с контролем составила 39,7%). Гриб и перманганат калия вызывают резкое ингибирование энергии прорастания (на 51,5%). Совместное действие наночастицы и гриба оказалось стимуляционным по сравнению с вариантом «Гриб» практически для всех вариантов концентраций NPCu, в особенности для концентрации $16 \cdot 10^{-7}$ мг/л (прибавка 67,4%). Совместное действие перманганата калия и гриба привело к резкому (в несколько раз) снижению энергии прорастания по сравнению с вариантами совместного действия наночастицы и грибка. При малой среднеквадратической ошибке средней (до 5%) отмеченные различия можно считать существенными.

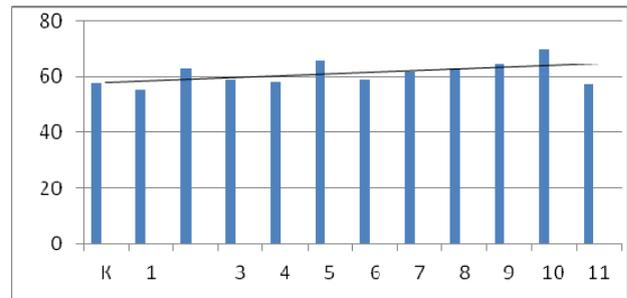


Рис. 3. Всхожесть семян пшеницы Арнаутка 7 при действии на семена дисперсных систем с различными концентрациями NPCu,%. К – контроль; концентрации NPCu, в мг/л: 1 – 10^1 ; 2 – 10^{-1} ; 3 – 10^{-3} ; 4 – 10^{-5} ; 5 – 10^{-7} ; 6 – 10^{-9} ; 7 – 10^{-11} ; 8 – 10^{-13} ; 9 – 10^{-15} ; 10 – 10^{-17} ; 11 – 10^{-19} .

Таким образом, на семенах тритикале с помощью параметра «энергия прорастания семян» выявлена оптимальная стимуляционная концентрация NPCu в дисперсии ($32 \cdot 10^{-8}$ мг/л), показана способность NPCu противостоять угнетающему действию гриба на семена, то есть повышать их устойчивость к грибковым заболеваниям, причем в большей степени, чем традиционно используемый для этих целей перманганат калия.

По всхожести семян на 7-й день различия между вариантами сгладились, как и в случае с действием дисперсий NPAg, гриба и перманганата калия на семена тритикале (рис. 4).

Можно говорить о наличии существенных различий только между контролем и вариантом NPCu $2 \cdot 10^{-4}$ мг/л + Гриб. Соответствующие значения всхожести семян – $(91,3 \pm 2,66)\%$ и $(76,0 \pm 1,15)\%$. В данном опыте вновь подтверждена более высокая информативность параметра энергии прорастания семян по сравнению с параметром их всхожести при оценке влияния

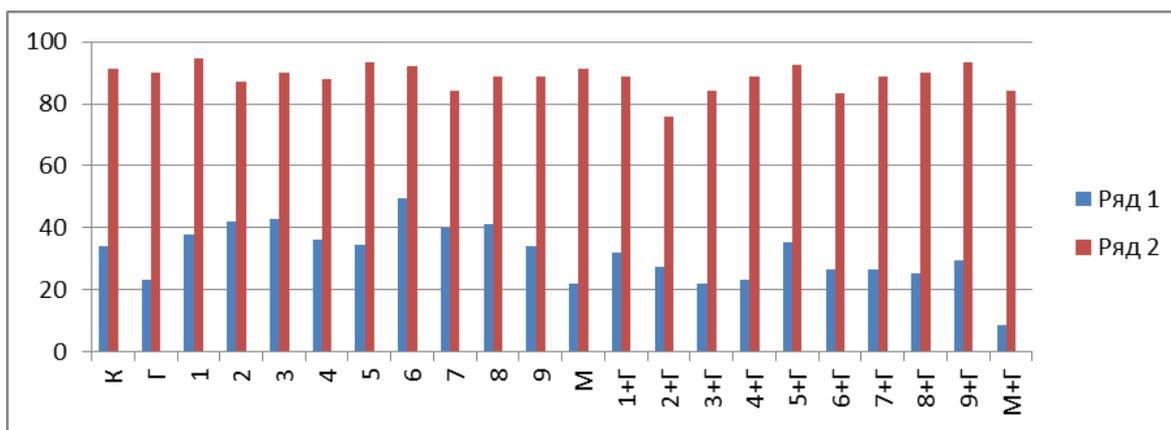


Рис. 4. Энергия прорастания и всхожесть семян тритикале (сорт Инген-93) при раздельном и совместном действии на семена дисперсий с различными концентрациями NPCu, перманганата калия и гриба *Alternaria alternata*, %. К – контроль; Г – гриб *Helminthosporium avenale*; М – KMnO_4 ; концентрации растворов наносеребра соответственно, в мг/л: 1 – $1 \cdot 10^{-3}$; 2 – $2 \cdot 10^{-4}$; 3 – $4 \cdot 10^{-5}$; 4 – $8 \cdot 10^{-6}$; 5 – $16 \cdot 10^{-7}$; 6 – $32 \cdot 10^{-8}$; 7 – $64 \cdot 10^{-9}$; 8 – $128 \cdot 10^{-10}$; 9 – $256 \cdot 10^{-11}$.

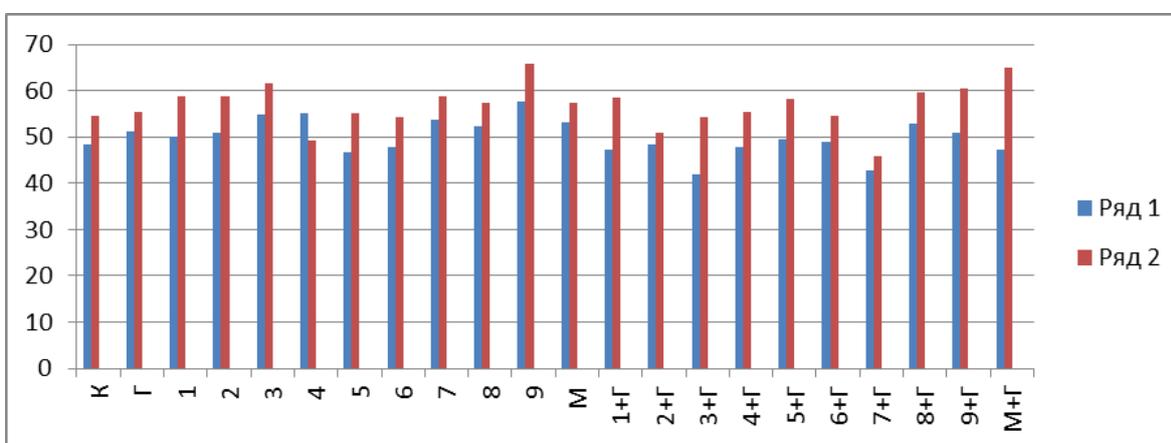


Рис. 5. Длина ростка и корешка проростка тритикале (сорт Инген-93) при раздельном и совместном действии на семена дисперсий с различными концентрациями NPCu, перманганата калия и гриба *Alternaria alternata*, %. Ряд 1 – росток; Ряд 2 – корешок; К – контроль; Г – гриб; М – KMnO_4 ; концентрации растворов наносеребра соответственно, в мг/л: 1 – $1 \cdot 10^{-3}$; 2 – $2 \cdot 10^{-4}$; 3 – $4 \cdot 10^{-5}$; 4 – $8 \cdot 10^{-6}$; 5 – $16 \cdot 10^{-7}$; 6 – $32 \cdot 10^{-8}$; 7 – $64 \cdot 10^{-9}$; 8 – $128 \cdot 10^{-10}$; 9 – $256 \cdot 10^{-11}$.

наночастиц металлов на жизнеспособность семян растений.

В этом же опыте по параметру «длина корешка проростка» также обнаружена стимуляция в большинстве вариантов (рис. 5). Наибольший стимуляционный эффект получен при концентрации $2,56 \cdot 10^{-9}$ мг/л (прибавка 20,3%). При этой концентрации наночастиц добавление гриба не только не снижает длину корешка, но даже увеличивает её по сравнению с контролем на 10,8%, а по сравнению с вариантом раздельного действия гриба – на 18,7%.

По параметру «длина ростка» также наибольшим стимуляционным эффектом характеризуется концентрация наночастиц $2,56 \cdot 10^{-9}$ мг/л (прибавка 21,6%). Совместное действие наночастиц с этой концентрацией и гриба также было стимуляционным по сравнению с действием только гриба (прибавка 9,3%).

Таким образом, наибольший положительный эффект по ростовой активности проростков при действии различных концентраций наночастиц

меди раздельно и совместно с грибом получен на самой низкой использованной в опыте концентрации наночастиц – $2,56 \cdot 10^{-9}$ мг/л.

Дополнительно рассмотрим параметры «отношение длин корешка и ростка» и «число правых проростков». Поскольку гриб вызывает у проростков корневые гнили, следует ожидать, что это приведет к уменьшению длины корешка по сравнению с длиной ростка, то есть уменьшится отношение длин корешка и стебля. В свою очередь, NPCu, характеризующиеся фунгицидным эффектом, могут привести к увеличению этого отношения. Действительно, согласно рис. 5, данное отношение увеличивается в вариантах «NPCu + Гриб» ($1,18 \pm 0,026$)% и « MnO_2 + Гриб» (1,45%) по сравнению с контролем (1,14%) и вариантом «Гриб» (1,09%).

По числу правых проростков варианты «NPCu» ($54,4 \pm 1,44$)% и «NPCu + Гриб» ($54,2 \pm 1,04$)% превышали контроль ($50,0 \pm 1,47$)%. Следовательно, стимуляционное и фунгицидное действия NPCu отразились на уве-

Таблица 3. Длина ростка проростка злаковых растений при раздельном и совместном действии на семена дисперсий NPAg, гриба *Alternaria alternate* и $KMnO_4$

№ п/п	Вариант	Тритикале (сорт Инген-93)	Пшеница (сорт Н335)	Пшеница (сорт Арнаутка 7)
1	Контроль	101,94 ± 3,49	75,47 ± 3,26	94,88 ± 2,90
2	Гриб	96,56 ± 4,24	79,40 ± 3,06	73,30 ± 3,48***
3	8·10 ⁻⁶ моль/л	91,53 ± 2,38*	92,41 ± 3,10***	96,83 ± 4,55
4	16·10 ⁻⁷ моль/л	113,13 ± 3,85*	78,67 ± 2,79	98,22 ± 3,34
5	32·10 ⁻⁸ моль/л	81,43 ± 2,14***	94,00 ± 5,90**	90,09 ± 2,70
6	$KMnO_4$	97,67 ± 3,08	84,60 ± 3,48**	88,60 ± 3,00
7	8·10 ⁻⁶ моль/л + Гриб	107,60 ± 2,68	89,19 ± 3,78**	111,54 ± 3,98***
8	16·10 ⁻⁷ моль/л + Гриб	117,02 ± 2,17***	94,95 ± 2,85***	101,89 ± 3,06
9	32·10 ⁻⁸ моль/л + Гриб	105,60 ± 2,78	77,02 ± 2,81	69,78 ± 3,49***
10	$KMnO_4$ + Гриб	101,55 ± 2,81	106,50 ± 4,23***	84,62 ± 2,24**

Таблица 4. Элементы структуры урожая озимого тритикале (сорт Инген-93) на полевом участке при предпосевной обработке семян водной дисперсией, содержащей NPAg

Вариант	Число правых проростков в лабораторном опыте, %	Число всходов на полевом участке, %	Длина главного стебля, см	Число продуктивных стеблей растения, выросшего из одного зерна, шт	Вес 1000 зерен, г	Урожай с делянки 4 м ² , г	% по отношению к контролю
Контроль	41,5 ± 3,7	65,9 ± 1,2	95,6 ± 1,03	2,05 ± 0,21	51,5	1551	100
Опыт	60,2 ± 2,7**	75,4 ± 2,0**	96,3 ± 1,23	2,21 ± 0,20	50,5	2426**	156,4

личении числа правых проростков, что подтверждает наши прежние данные о корреляции этого параметра с активностью роста злаковых растений [21].

Оценка продуктивности растений в полевых условиях при замачивании в водной дисперсии NPAg

Была проведена предварительная оценка эффективности предпосевной обработки семян озимого тритикале Инген-93 дисперсией NPAg с концентрацией $16 \cdot 10^{-7}$ моль/л и экспозицией 1 час. Данный режим был стимуляционным в лабораторном опыте (табл. 3, [19, 20]). Предварительно эффективность этого режима вновь была проверена в лабораторных условиях по критерию числа правых проростков. Этот параметр существенно превысил контроль на (18,7%). Поскольку он коррелирует с активностью роста злаковых растений [21], следовало ожидать, что выбранный режим будет стимуляционным и в полевых условиях. Семена высевали осенью 2012 года на учетных делянках площадью 4 м². Спустя 30 дней определяли число всходов, а летом 2013 года – элементы структуры урожая. Получено превышение урожая зерна в 1,56 раза по отношению к контролю. Как видно из табл. 4, эффект обусловлен в основном боль-

шим числом выживших растений опытного варианта и большим числом продуктивных стеблей растения, выросшего из одного зерна.

ВЫВОДЫ

1. Обнаружено существенное влияние водных дисперсий наночастиц серебра и меди на процессы прорастания семян и роста проростков некоторых зерновых и овощных культур, что согласуется с литературными данными.

2. Впервые наблюдались четкие эффекты стимуляции энергии прорастания и всхожести семян, роста надземной и подземной частей проростков и числа правых проростков при замачивании их в дисперсной системе с ультранизкой концентрацией наночастиц серебра (до 10^{-8} моль/л) и меди (10^{-17} мг/л).

3. Обнаружен заметный фунгицидный эффект нанофактора. При этом происходит практически полное восстановление (до контрольного уровня) ростовой активности опытных вариантов, обработанных патогенными грибами.

4. В результате предпосевной обработки семян тритикале водной дисперсией наночастиц серебра в концентрации, стимуляционной для лабораторных условий, существенно повышается урожай растений в полевых условиях.

5. Полученные данные могут быть использованы при разработке перспективного экономич-

ного и экологически чистого метода предпосев-ной стимуляционной обработки семян ультра-низкими концентрациями наночастиц металлов, содержащихся в водной дисперсии.

ЛИТЕРАТУРА

- Ling Y., Yatts D. Particle Surface Characteristics May Play an Important Role in Phytotoxicity of Alumina Nanoparticles. *Toxicology Letters*. 2005, **158**, 122–132.
- Zhu H., Han J., Xiao J.Q., Jin Y. Uptake, Translocation and Accumulation of Manufactured Ironoxide Nanoparticles by Pumpkin Plants. *Journal Environment Monitoring*. 2008, (10), 713–717.
- Yatts D., Ling Y. Nanoparticles Could Have a Negative Effect on Plant Growth. *Nanotechn. News*. 2007, (3), 86–92.
- Моргалёв Ю.Н., Хоч Н.С., Моргалёва Т.Г. и др. Биотестирование наноматериалов: о возможности транслокации наночастиц в пищевые сети. *Российские нанотехнологии*. 2010, **5** (11–12), 131–135.
- Райкова А.П., Паничкин Л.А., Райкова Н.Н. Исследование влияния ультрадисперсных порошков металлов, полученных различными способами, на рост и развитие растений. *Материалы Международной научно-практической конференции «Нанотехнологии и информационные технологии – технологии XXI века»*. 2006, Москва, Россия, С. 108–111.
- Глуценко Н.Н., Богословская О.А., Ольховская И.П. Сравнительная токсичность солей и наночастиц металлов и особенность их биологического действия. *Материалы Международной научно-практической конференции «Нанотехнологии и информационные технологии – технологии XXI века»*. 2006, Москва, Россия, С. 93–95.
- Володина Л.А., Жигач А.Н., Лейпунский И.О., Зотова Е.С., Глуценко Н.Н. Влияние физико-химических характеристик модифицированных поверхностей наноразмерных частиц меди на ингибирование роста культуры клеток и электростатические свойства поверхности бактерий. *Биофизика*. 2013, **58**(3), 507–515.
- Сушилина М.М. Влияние предпосевной обработки семян ультрадисперсными порошками металлов на урожайность зеленой массы рапса и содержание в ней биологически активных веществ. Автореф. дис. канд. с.-х. н., М., 2003. 21 с.
- Зорин Е.В. Особенности влияния предпосадочной обработки клубней картофеля ультрадисперсными порошками и солями железа и меди на их урожайные свойства. Автореф. дис. канд. с.-х. н., М., 2009. 21 с.
- Паничкин Л.А., Райкова А.П. Использование нанопорошков металлов для предпосевной обработки семян с.-х. культур. *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2009, (1), 59–65.
- Райкова А.П. Экологически чистая технология выращивания льна. *Материалы Международной научно-практической конференции*. 2004, Вологда, Россия, С. 15–20.
- Егоров Н.П., Шафронов О.Д., Егоров Д.Н., Сулейманов Е.В. Разработка и проведение экспериментальной оценки эффективности применения в растениеводстве новых видов удобрений, полученных с использованием нанотехнологий. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. 2008, (6), 94–99.
- Астафурова Т.П., Моргалёв Ю.Н., Зотикова А.П. и др. Влияние наночастиц диоксида титана и оксида алюминия на морфофизиологические параметры растений. *Вестник Томского государственного университета*. 2011, (1), 113–122.
- Сидоренко О.Д., Райкова А.П. Бактеризация семян овощных культур. *Мир теплиц*. 1997, 45–48.
- Давронов К.С., Усманов Р.М., Кучкарев К.К. Активность энергетических систем клеток у растений хлопчатника при действии ультрадисперсных порошков металлов и ферростимулятора. *Сельскохозяйственная биология*. 2008, (1), 65–69.
- Mirgorod Yu.A., Borodina V.G. Preparation and Bactericidal Properties of Silver Nanoparticles in Aqueous Tea Leaf Extract. *Inorg. Mat.* 2013, **49**(10), 980–983.
- Миргород Ю.А., Борщ Н.А., Бородин В.Г., Юрков Г.Ю. Получение и характеристика хлопчатобумажной ткани, модифицированной наночастицами меди. *Химическая промышленность*. 2012, **89**(6), 310–316.
- Билай В.И. *Методы экспериментальной микологии*. Киев: Наукова думка. 1982. 550 с.
- Maslobrod S.N., Mirgorod Yu.A., Lupashku G.A., Borsch N.A. Stimulation of Seed Viability by Means of Dispersed Solution of Silver Nano-Particles. *Proceedings 2nd Intern. Conf. on Nanotechnologies and Biomedical Engineering*. Chisinau, Moldova, 2013, p. 455–458.
- Maslobrod S.N., Mirgorod Yu.A., Lupashku G.A., Borsch N.A. Stimulation of Seed Viability by Means of Dispersed Solution of Copper Nano-Particles at Extremely Low Concentration. *Proceedings 2nd Intern. Conf. on Nanotechnologies and Biomedical Engineering*. Chisinau, Moldova, 2013, p. 527–531.
- Maslobrod S.N., Korletyanu L.B., Ganya A.I. Influence of Millimetric Radiation on the Viability of Plants: Changing the Metabolism of Seeds at the Factor's Influence on Dry Seeds. *Surf Eng Appl Electrochem*. 2010, **46**(5), 477–488.

Поступила 04.12.13

После доработки 14.01.14

Summary

After soaking the seeds of grain and vegetable crops (wheat, triticale, tomato) in water dispersed solutions of copper silver nanoparticles (NPAg) and nanoparticles

(NPCu) at different concentrations, an essential increase in the germinating energy and seed viability, sprout growth and number of right sprouts were revealed. The effect depends on the nature of nanoparticles, their concentration, the impact time and the genotype of the claimed seeds. The stimulation was revealed under the action of the dispersed solutions at extremely low concentrations of NPAg (up to 10^{-8} mol/L) and of NPCu (up to 10^{-17} mg/L). The sol treatment of seeds promoted an increase in the degree of their resistance to pathogenic fungi (causing root rots in sprouts). Treatment of the

seeds by the dispersed nanosilver solution at low concentration (10^{-7} mol/L) led to an essential increase (up to 56%) of the plant productivity in field conditions.

Keywords: water dispersed solutions, nanoparticles of copper and silver, seed viability, ultra low concentrations, low temperature, antifungal effect, germinating energy, length of the main root and the stem of the sprout, number of right sprouts, pathogenic fungi, resistance and productivity of plants.