

В. В. Туров, Е. В. Юхименко

Влияние нанокремнеземов на параметры прорастания семян и состояние воды в частично дегидратированных корнях пшеницы

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины Н. Т. Картелем)

Показано, що нанокремнезем А-300 здатен стимулювати проростання насіння пшениці так само, як захисно-стимулюючі суміші, створені на основі метильованого кремнезему та мінеральних добрив. Вивчено стан води в частково дегідратованих корнях пшениці на різних стадіях її проростання. Встановлено, що залишкова вода в біоматеріалі знаходиться в кластерному стані і в спектрах ^1H ЯМР спостерігається у вигляді двох сигналів з різною величиною хімічного зсуву — 5 і 1 м. ч. для сильно- та слабоасоційованої води відповідно. Присутність нанокремнеземів в зоні пророщування суттєво змінює співвідношення концентрацій різних форм води.

Перспективным направлением использования нанотехнологий для предпосевной обработки семян может стать применение пылеобразных покрытий, созданных на основе наночастиц кремнеземов или их смесей, которые активно влияют на водный баланс развивающихся семян и обеспечивают локальное питание растений (защитно-стимулирующих смесей — ЗСС). Такая защитная обработка может эффективно решать проблемы, возникающие в случае озимого и ранневесеннего посева для многих типов сельскохозяйственных культур [1–3]. В настоящее время ведутся усиленные поиски наноструктурных форм микроэлементов [4–6]. Поскольку кристаллические наноструктуры обладают значительно большей поверхностной энергией, чем объемные, их растворение в почвенной влаге и переход в зону прорастания может осуществляться со значительно меньшими затратами энергии.

В Институте химии поверхности НАН Украины были разработаны принципиально новые защитно-стимулирующие составы. Они представляют собой наноконкомпозиты в состав которых при необходимости может быть включен полный набор необходимых макроэлементов (азот, фосфор, калий), микроэлементы (В, Mg, Mn, Zn, Cu, Mo, Co и др.), средства защиты растений, стимуляторы их роста и адгезив-носители [7].

Механизм воздействия наночастиц кремнеземов на семенной материал на ранних стадиях их прорастания в настоящее время досконально не изучен. В публикациях [8, 9] высказано предположение о возможности влияния наночастиц на состояние воды в зоне прорастания. Методом низкотемпературной ^1H ЯМР спектроскопии показана возможность формирования на межфазных границах частиц нанокремнезема или ЗСС слоев слабоассоциированной воды, молекулы которой участвуют в формировании менее двух водородных связей, приходящихся на каждую молекулу.

В настоящем сообщении представлено изучение состояния воды в корнях пшеницы на ранних стадиях ее прорастания и влияние на него присутствия в зоне контакта семян с водной средой частиц гидрофильного нанокремнезема или защитно-стимулирующей смеси, приготовленной на основе метилированного (гидрофобного) кремнезема и минеральных удобрений.

Экспериментальная часть. Использовался высокодисперсный кремнезем (ВДК) марки А-300, выпускаемый Калушским экспериментальным заводом (Украина), с удельной поверхностью 300 м²/г. Метилкремнезем марки АМ-1-300 (Калуш, Украина), синтезированный путем обработки аэросила А-300 метилхлорсиланом. ЗСС готовился путем механохимической активации в шаровой мельнице метилаэросила АМ-1-300 в присутствии смеси (1 : 1 : 1) калийных, фосфорных и азотных удобрений.

Исследовались семена озимой пшеницы (сорт Киянка), которые проращивались в чашках “Петри” при температуре 22–25 °С в обычной, питьевой воде (контроль, 1), в том же объеме воды, содержащей 1% масс ВДК (2), и предварительно обработанных ЗСС (3).

После трех суток проращивания половина семян извлекалась и для нее производился подсчет энергии прорастания, определялась всхожесть, длина и масса корней и проростков. На восьмые сутки такие же измерения проводились для оставшейся части ростков и корней.

Спектры ЯМР получали на ЯМР-спектрометре высокого разрешения (Varian “Mercury”) с рабочей частотой 400 МГц. Методика ЯМР-измерений и определения термодинамических характеристик и радиуса кластеров межфазной воды подробно описана в монографии [8].

Результаты и их обсуждение. В табл. 1 приведены значения биометрических показателей проросших семян, выращиваемых в разных условиях. Как видно из данных табл. 1, оба наноматериала способны оказывать значительное стимулирующее воздействие на биометрические параметры проросшей пшеницы. Существенно возрастает длина и масса проростков, а также количество корней, приходящихся на одно растение. На всхожесть и сырую массу корней ЗСС оказывает большее влияние, чем ВДК А-300. При этом, однако, следует учитывать, что в состав ЗСС входит комплекс минеральных удобрений, локализация которых вблизи поверхности семян обеспечивается их капсулированием гидрофобной оболочкой, состоящей из частиц метилкремнезема, в то время как стимулирующее воздействие А-300 может осуществляться лишь за счет взаимодействия наночастиц с биосистемами растения в зоне прорастания.

На рис. 1 приведены снятые при разной температуре спектры ¹Н ЯМР воды в частично дегидратированных корнях контрольного образца проросшей пшеницы, снятые на воздухе и в слабополярной среде органического растворителя — дейтерохлороформа (CDCl₃). Дейтерированный аналог использовался для предотвращения появления в спектрах интенсивного сигнала протонов растворителя. В воздушной среде остаточная вода наблюдается в спектрах в виде двух уширенных сигналов, химические сдвиги которых составляют около 1 и 5 м. д. В соответствии с классификацией [8], их следует относить к слабо- и сильно-ассоциированной воде (WAW и SAW соответственно). Слабополярная среда приводит к зна-

Таблица 1. Биометрические показатели прорастания пшеницы в присутствии нанокремнезема А-300 и ЗСС по сравнению с контролем

Измеряемый параметр	Контроль	1% SiO ₂	ЗСС
Энергия прорастания, %	67	75 (+8%)	88 (+21%)
Всхожесть, %	74	81 (+7%)	95 (+21%)
Длина проростков, см	7,50	10,70 (+42%)	11,30 (+50%)
Сырая масса проростков, г	1,05	1,65 (+57%)	1,66 (+58%)
Масса 100 ростков, г	1,54	2,21 (+43%)	1,90 (+23%)
Длина корней, см	4,50	3,40 (-24%)	8,40 (+86%)
Сырая масса корней, г	1,10	1,23 (+12%)	2,00 (+82%)
Кол-во корней на 1 растение, шт.	2,60	3,70 (+42%)	4,20 (+61%)

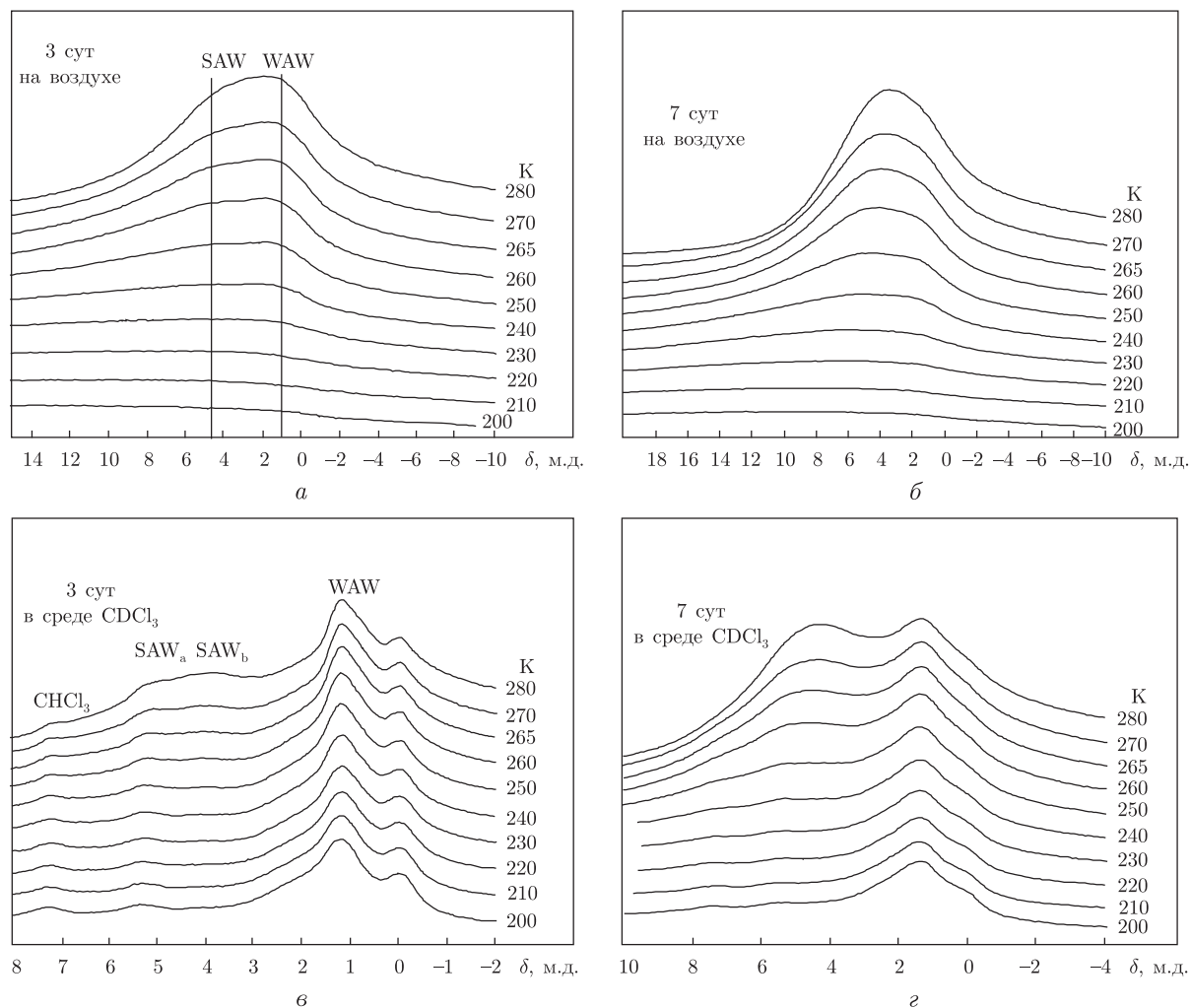


Рис. 1. Снятые при разной температуре спектры ^1H ЯМР воды в корнях пшеницы при их влажности 7% по массе на воздухе (*a*, *б*) и в среде CDCl_3 (*в*, *г*) в случае их проращивания в течение 3 (*a*, *в*) и 7 (*б*, *г*) сут

чительному уменьшению ширины сигналов воды, причем SAW регистрируется в виде двух сигналов — SAW_a и SAW_b , различающихся по ширине и химическому сдвигу. При этом в спектрах также наблюдаются остаточный сигнал CH протонов непродейтерированной составляющей хлороформа и CH_3 -групп тетраметилсилана (ТМС), добавляемого в хлороформ в качестве стандарта. Значительное уменьшение ширины сигналов в спектрах следует относить на счет уменьшения неоднородного уширения, связанного с большим различием магнитных восприимчивостей воздуха и биоматриала [10]. Сигналы протонов биополимерных цепей полисахаридов, составляющих основу дегидратированных корней, не наблюдаются в спектрах ввиду очень малого (до 10^{-6} с) времени поперечной релаксации протонов в твердых телах [10]. Для остальных образцов корней (спектры которых не приведены) вид спектров оставался сходным с приведенным на рис. 1 и изменялся только за счет некоторого перераспределения интенсивностей сигналов сильно- и слабоассоциированной воды.

Из рис. 1, *a*, *б* следует, что с понижением температуры интенсивность сигнала SAW уменьшается значительно сильнее, чем WAW, т. е. слабоассоциированная вода преимущест-

венно является сильносвязанной (SBW, способной замерзнуть при $T < 250$ К [8]). Слабополярная среда хлороформа еще в большей степени уменьшает способность WAW к замерзанию (см. рис. 1, в, з). Соотношение интенсивностей слабо- и сильноассоциированной воды может существенно изменяться при увеличении времени проращивания, причем этот эффект зависит от среды измерения. Так, на воздухе (см. рис. 1, а, б) после 3 сут проращивания фиксируется несколько большая интенсивность сигнала WAW, а после 7 сут проращивания — сигнала SAW. Напротив, в среде CDCl_3 (см. рис. 1 в, з) с ростом времени проращивания резко увеличивается количество SAW. Отсюда следует, что даже гидрофобная органическая среда не является инертной по отношению к воде, локализованной во внутренних полостях, заключенных в биополимерную (целлюлозную) матрицу материала дегидратированных корней и способна оказывать влияние как на соотношение количества разных форм воды, так и на энергетические параметры ее связывания с внутренними границами раздела фаз.

Температурные зависимости интенсивности сигналов разных форм межфазной воды для частично дегидратированных корней, проращенных в присутствии нанокремнезема А-300 и ЗСС в сопоставлении с контролем, иллюстрирует рис. 2. Для спектров, снятых в воздушной среде, рассчитывались лишь общие количества сильно- и слабоассоциированной воды ($C_{\text{SAW+WAW}}$), поскольку разделение широких, близко расположенных сигналов, приводило к значительной погрешности вычислений. В среде CDCl_3 , когда это было возможно, рассчитывались концентрации двух типов сильноассоциированной воды (C_{SAW_a} , C_{SAW_b}) и слабоассоциированной воды (C_{WAW}). Вертикальная черта при $T = 250$ К позволяет для каждой изученной системы оценить содержание сильно- и слабосвязанной воды (WBW, которая замерзает при $T > 250$ К). Из приведенных на рис. 2 результатов следует, что в воздушной среде (см. рис. 2, а, б) в образцах присутствует значительное количество как слабо-, так и сильносвязанной воды. Вклад от WAW уменьшается для образца, проращенного в присутствии А-300. В присутствии ЗСС через 3 сут проращивания соотношение WBW/SBW изменяется незначительно, а после 7 сут количество WBW несколько возрастает.

В среде CDCl_3 , большая часть сильноассоциированной воды, регистрируемой в спектрах как сигнал (а), является слабосвязанной (см. рис. 2, в, з). В то же время практически вся вода, наблюдающаяся как сигнал (б), относится к сильносвязанной. Через 3 сут проращивания в среде А-300 (в слое SAW) доля слабосвязанной воды уменьшается, а после 7 сут — возрастает.

В слое слабоассоциированной воды (см. рис. 2, д, е) после 3 сут проращивания в присутствии обоих наноматериалов наблюдается уменьшение общего количества WAW, причем минимальные значения C_{WAW} фиксируются в присутствии ВДК А-300, однако именно для этого образца через 7 сут проращивания C_{WAW} становится максимальной и составляет более 60% от общего содержания воды в биоматериале. Более половины от общего количества слабоассоциированной воды следует относить к сильносвязанной воде.

Таким образом, наноструктурированный высокодисперсный кремнезем А-300, как и ЗСС на основе метилированного кремнезема, может оказывать существенное влияние на биометрические параметры прорастания пшеницы, увеличивая объем и массу формирующихся проростков и корней. Обнаружено, что вода в частично дегидратированных корнях пшеницы на разных стадиях ее прорастания находится в кластерном состоянии и присутствует в виде сильно- и слабоассоциированных форм, которые регистрируются в спектрах ^1H ЯМР в виде отдельных сигналов, различающихся по величине химического сдвига. Проращивание семян в присутствии наноматериалов изменяет соотношение концентраций разных

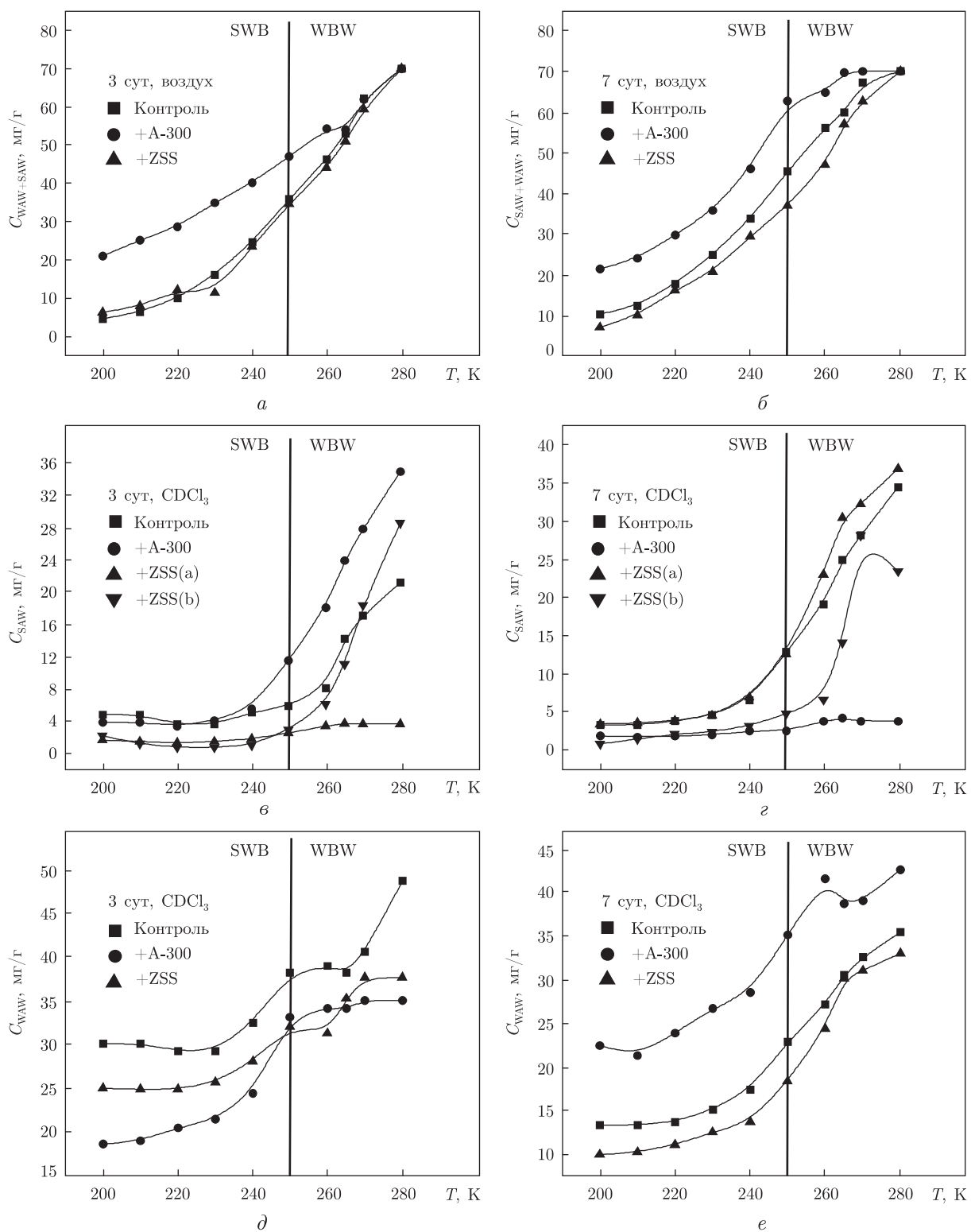


Рис. 2. Температурные зависимости интенсивности сигналов разных форм межфазной воды, снятые на воздухе и в среде $CDCl_3$ в частично дегидратированных корнях пшеницы при разных сроках ее проращивания

форм воды. Величина эффекта зависит от типа используемого материала и времени проращивания. В присутствии ВДК А-300 через 7 сут после начала проращивания в образцах корней фиксируется максимальное количество слабоассоциированной воды. Вероятно, это служит одним из основных факторов, определяющих высокую биологическую активность этого нанокремнезема, который оказался способен стимулировать развитие растений даже при отсутствии вносимых извне питательных веществ.

1. Егоров М. А. Биорегуляторы с наноконпонентами как перспективные биопрепараты // Нанотехника. – 2006. – № 4. – С. 74–76.
2. Шабанова И. В., Цокур М. Н., Долотова М. С. Наноматериалы в сельском хозяйстве: получение и применение // Науч. журн. КубГАУ. – 2007. – № 27 (3). – С. 1–11.
3. Крылов С. В., Рогачова И. Н. Осенние посевы лука-чернушки с гидрофобизированными семенами. – Москва: Тимирязев. сельхоз. академия, 1968. – Вып. 148. – С. 129–134.
4. Селиванов В. Н., Зорин Е. В., Сидорова Е. Н. и др. Пролонгированное воздействие ультрадисперсных порошков металлов на семена злаковых культур // Перспектив. материалы. – 2001. – № 4. – С. 66–69.
5. Суздалев И. П. Нанотехнология: физико-химия кластеров, наноструктур и наноматериалов. – Москва: Ком-Книга, 2006. – 592 с.
6. 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 // Вестн. Нижегород. ун-та им. Н. И. Лобачевского. – 2008. – № 6. – С. 94–99.
7. Пат. 4705 Україна, МКВ А 01 С 1/00, А 01№ 59/00. Засіб для обробки насіння перед сівбою / О.О. Чуйко, В.І. Богомаз, О.В. Юхименко. – № 94240425. – Заявл. 06.05.93; Опубл. 28.12.94; Бюл. № 7-1.
8. Гунько В. М., Туров В. В., Горбик П. П. Вода на межфазной границе. – Киев: Наук. думка, 2009. – 694 с.
9. Юхименко Е. В., Гунько В. М., Туров А. В. и др. Гидратные структуры в наноструктурированных системах на основе высокодисперсного кремнезема и влияние их на биомолекулы растительного происхождения // Наносистемы, наноматериалы, нанотехнологии. – 2008. – 6, № 1. – С. 303–313.
10. Abragam A. The Principles of Nuclear Magnetism. – Oxford, UK: Oxford Univ. Press, 1961. – 591 p.

Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко
НАН Украины, Киев

Поступило в редакцию 09.02.2011

V. V. Turov, E. V. Yukhymenko

Influence of nanosilica on seeds germination parameters and state of water in partially dehydrated roots of wheat

It is shown that nanosilica A-300 can stimulate the germination of wheat seeds like protective and stimulating mixtures based on methylated silica and mineral fertilizers. The state of water in partially dehydrated wheat roots at different stages of germination is investigated. It is found that the residual water in biomaterials is in the cluster state and is revealed as two signals with different values of the chemical shift in ^1H NMR spectra — 5 and 1 ppm for strongly and weakly associated water, respectively. Nanosilica locating in the zone of germination significantly alter the concentrations of different forms of water.