

Экологически чистая стимуляция и улучшение технологических качеств семян (Навроцкая Л.В., Навроцкая С.Р.)

В наши дни развитие биотехнологий улучшает имеющиеся и создаваемые новые сорта сельскохозяйственных культур на пользу человечества происходит намного быстрее, чем столетие назад. Так, продукты, содержащие генетически модифицированные организмы (ГМО), вызывают у человека множество тяжёлых заболеваний, приводящих как к генетическим нарушениям, так и к смертельным исходам. Многие учёные считают эти продукты питания биологическим оружием для человечества.

В настоящее время большое количество продуктов питания содержат ГМО и пестициды, что является проблемой питания населения страны. ГМО и пестициды вреда для здоровья человека, сельскохозяйственное применение генетически модифицированных культур приводит к сокращению до 30 % биоразнообразия и ухудшению состояния окружающей среды. Массовое вымирание пчёл в странах, где культивируют транс гены, происходит потому, что приходится все время увеличивать количество гербицидов для выращивания генетически изменённых культур.

Учитывая результаты научных исследований и разработок в области электротехнологий, приводящих к хемоэлектрическим и генетическим преобразованиям, предлагается решение проблемы улучшения качества существующих сортов сельскохозяйственных культур и создания новых, с широким спектром наследственных хозяйственно ценных признаков будущих растений. Всё это за счёт совершенствования электрофизических способов управления энергетическим потенциалом биологических объектов – семян сельскохозяйственных растений.

Как показали исследования, в видимом диапазоне излучения можно получать большой спектр положительных aberrаций [35].

Для стимуляции семян в основном используется излучение красной длины волны, как максимально поглощаемое фотохромной системой

(Девятков и др.). Энергия красного света по своему значению очень близка к энергетическим уровням, на которых работают живые организмы. При лазерном облучении семян с наибольшей частотой возникают положительные изменения хозяйственно ценных признаков, являющихся морфологическими мутациями количественных признаков – скороспелые, крупнозерновые, плотноколосые, морозоустойчивые и др. [36]. Дубинин считал, что возникновение малых мутаций, т.е. мутаций количественных признаков, связано с мелкими хромосомными абберациями, не вызывающими стерильности [37]. По мнению Gustafsson мелкие хромосомные абберации, возникающие при сравнительно невысоких дозах облучения и вызывают повышение урожайности в 15-20 раз чаще, чем генные мутации [38].

При облучении семян лазером у выросших из них растений наблюдалось появление с высокой частотой качественных морфологическим мутаций: окраска, форма колоса, остистость, продуктивность и т.д. [39].

Воздействие непрерывного излучения лазеров с длинами волн от 480 до 632 нм на семена овощных культур приводит к более чем двукратному увеличению частоты хромосомных аббераций в клетках семян от 5,1 до 12,4%, в результате появляются скороспелые семьи, созревающие на 4–12 дней раньше контрольных форм. Так же это приводит к повышению урожайности на 10–15%.

При подборе свойств лазерного излучения для облучения семян удаётся управлять процессами, происходящими в семенах на молекулярном уровне. С увеличением длины волны источника излучения при облучении семян наблюдается уменьшение выхода хромосомных аббераций, а также уменьшение отличий облучённых семян от контрольных.

Наибольшее число положительных признаков у проростков семян, их стимуляционное развития и повышение выхода хромосомных аббераций наблюдались у семян, облучённых импульсным лазерным излучением в сравнении с облучением их непрерывным лазерным излучением.

Установлено, что у всех семян существует единый механизм приёма энергии и, что таким приёмником являются молекулы воды. Следовательно, чем больше воды впитают семена, тем больше энергии они смогут поглотить при последующем облучении.

Несмотря на практические успехи электротехнологий, до настоящего времени не разработаны комплексные способы и методы электрофизического воздействия на семена, вызывающие увеличение выхода хромосомных aberrаций, усиливающих эффект стимуляции и устройства для их обработки.

Цель работы заключается в разработке комплексных экологически чистых электрофизических способов, устройства и математических моделей управления сельскохозяйственными электротехнологиями максимально повышающими выход хромосомных aberrаций, расширяющих спектр морфологических хозяйственно ценных признаков и усиливающих стимуляцию развития растений.

В качестве материалов исследования послужили авторские разработки электрофизических методов водотермической и лазерной обработки семян овощных культур. Также материалами исследования послужили авторские разработки водотермической обработки семян совместной с переменным электрическим током и последующим лазерным облучением. В этой работе были использованы методы статистического анализа.

Лазерное облучение семян является одним из наиболее эффективных, мягких стимулирующих факторов воздействия на семена. Тип преобразования энергии в клетке - генерация протонного потенциала, и образование аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), обеспечивающей энергетический обмен веществ в клетке. В мембранах клеток находятся светопоглощающие белковые системы, которые связаны цепочкой друг с другом и соединяют внешнюю и внутреннюю поверхности мембраны.

Мембрана клетки содержит большое количество молекул светопоглощающего белка. Чтобы синхронизировать работу всех этих «фотогенераторов» для подачи в клетку наибольшего количества энергии,

каждый из которых работает сам по себе, для облучения семян необходимо генерировать световую вспышку продолжительностью менее 10^{-7} с. При облучении молекул светопоглощающего белка световой вспышкой длительностью 10^{-7} с все они срабатывают практически одновременно. Итак, большие скорости изменения разности мембранных потенциалов при указанных выше коротких вспышках света - вот, что нужно для увеличения поглощения световой энергии растительной клеткой, а, следовательно, и семенами. Эта энергия идёт на ускорение обменных процессов в клетках семян, развитие проростков, усиление стимуляционных процессов их роста и жизнедеятельности, а также на повышение выхода хромосомные aberrаций, закрепляющих в растениях эти, и расширяющие спектр других хозяйственно ценных признаков.

Из выше приведённых исследований был подобран источник облучения семян. Им является полупроводниковый импульсный лазер с электронным возбуждением и перестраиваемой длиной волны.

Из проведённого анализа литературных источников выяснилось, что при наблюдении за проростками сухих и увлажнённых семян после воздействия на них лазерного излучения наблюдается повышение выхода хромосомных aberrаций, способствующих усилению стимуляционных процессов в развитии проростков. Этот эффект достигается в основном за счёт изменения оптических свойств влажных семян, а также за счёт изменения их физиологического состояния.

Количественно процесс поглощения излучения веществом обычно характеризуется коэффициентом поглощения K_n . Величина K_n определяется длиной пути, проходимого излучением в веществе. Ослабление излучения веществом подчиняется по закону Бугера–Ламберта–Бера [40]:

$$K_n = 1 - e^{-kl}; \quad (64)$$

где k – показатель поглощения, m^{-1} ; l – длина пути, излучения в веществе, м;

Количественная зависимость фотохимического действия излучения от

условий облучения реагирующего вещества называемая законом взаимозаменяемости, и определяет связь между выходом фотохимической реакции и количеством облучения реагирующего вещества [41]:

$$M_p = i a \cdot (1 - e^{-kl}) \cdot F \cdot \tau; \quad (65)$$

или

$$M_p = i a \cdot (1 - e^{-kl}) \cdot E \cdot S \cdot \tau; \quad (66)$$

где M_p – число молекул исходного вещества, вступившего в реакцию за время облучения t ; шт.; S - площадь поверхности семени, m^2 ; E - облучённость семени, $Вт/m^2$; F - поток излучения, падающий на семя, $Вт$; τ - время облучения, $с$; a -постоянная скорости фотохимической реакции;

Подставляя (73) в (74) получим:

$$M = a \cdot K_n \cdot E \cdot S \cdot \tau; \quad (67)$$

Соотнеся величины выхода фотохимического действия лазерного излучения у влажных семян (M_w) и сухих (M_d), получил коэффициент, показывающий повышение выхода фотохимического действия излучения, в нашем случае усиление процессов хромосомных aberrаций, вызывающих стимуляцию развития проростков K_{xa} т.е.

$$K_{xa} = \frac{M_w}{M_d} = \frac{a \cdot K_{nw} \cdot E \cdot S_w \cdot \tau_o}{a \cdot K_{nd} \cdot E \cdot S_d \cdot \tau_o}; \quad (68)$$

где K_{nw} - коэффициент поглощения излучения влажным семенем; K_{nd} - коэффициент поглощения излучения сухим семенем; S_w - площадь поверхности влажного семени, m^2 ; S_d - площадь поверхности сухого семени, m^2 .

При увлажнении семена увеличивают свою площадь, а, следовательно, поглощают больше лучистой энергии. С учётом коэффициента усадки семени $\tilde{\alpha}$, о.е. площадь поверхности семени S, m^2 запишется:

$$S = S_o \cdot (1 + \tilde{\alpha} \cdot W); \quad (69)$$

где S_o – площадь абсолютно сухого семени, m^2 ; W – влажность семени,

о.е.

При увлажнении семян коэффициент их линейного расширения $\bar{\alpha}$, о.е., рассчитывается по формуле:

$$\bar{\alpha} = \frac{\alpha^{-1}}{(W - W_x) - \alpha^{-1} \cdot W}; \quad (70)$$

где W_x – влажность семян при их хранении, о.е.; α^{-1} – относительное увеличение длины семени, о.е.:

$$\alpha^{-1} = \frac{l l_c}{l}; \quad (71)$$

где l – длина семени после увлажнения, м; l_c – длина семени с начальной влажностью, м.

В свою очередь:

$$l = l_c(1 + \bar{\alpha} \cdot W); \quad (72)$$

$$l_c = l_o(1 + \bar{\alpha} \cdot W_x); \quad (73)$$

где l_o – длина абсолютно сухого семени, м.

На основании экспериментальных исследований и научных данных был разработан способ обработки семян с целью повышения выхода хромосомных aberrаций и усиления стимуляционных процессов развития проростков, предполагающий предварительную обработку семян водой контрастных температур, т.е. их водотермическую обработку (ВТО) с последующим лазерным облучением.

При водотермической обработке семена подвергаются воздействию водой двух постоянно чередующихся контрастных температур 20 °С и 40 °С в течении определённого времени, при котором происходит нагревание и охлаждение семени. В данном случае происходит теплообмен между поверхностью семени и окружающей средой, т.е. перенос влаги происходит за счёт диффузии. Закон этого теплообмена достаточно сложен, и для упрощения задачи он может быть принят в виде закона Ньютона-Рихмана

[42]. Оптимальная температура воды при обработке семян для лучшего их прорастания 37 °С. Поэтому нужно подобрать длительность периода обработки семян водой контрастных температур так, чтобы семена максимальное время находились при этой оптимальной температуре. Для этого определяем относительную температуру центра семени при его охлаждении и нагревании, с помощью графиков $\theta_{x=0}=f_1(Bi, Fo)$ и $\theta_{x=-1}=f_2(Bi, Fo)$ задачника по теплопередаче выражающуюся уравнением:

$$\Theta = \frac{t_c - t_b}{t_o - t_b}; \quad (74)$$

$$\Theta = \frac{t_b - t_c}{t_b - t_o}; \quad (75)$$

где t_c - температура центра семени, °С; t_b - температура жидкости, окружающей семя, °С; t_o - начальная температура семени, °С.

Зная температуру окружающей семя воды, начальную температуру семени и значение относительной температуры можно определить температуру центра семени, т.е. при его нагревании и охлаждении, а, следовательно, вычислить длительность периода обработки семян водой каждой из контрастных температур и подобрать длительность периода обработки семян так, чтобы семена максимальное время находились при оптимальной температуре 37 °С, а также количество энергии, которую получает семя при ВТО.

Для усиления и ускорения процесса водотермической обработки и процессов обмена веществ в клетках семян нужно использовать ещё один мутационно-стимулирующий фактор – переменный электрический ток. Электрический ток вызывает в тканях следующие физико-химические эффекты: электролиз, поляризацию, электродиффузию и электроосмос за счёт увеличения разности потенциалов на мембранах их клеток [43].

Привносимая низкоинтенсивными физическими факторами в биологические структуры энергия служит своеобразным «триггером» перераспределения свободной энергии клеток в тканях семян, существенно изменяющих их метаболизм, транскапиллярный обмен и несёт в себе черты «информационного» мутационно-стимуляционного воздействия.

Авторами разработан способ обработки семян поочерёдно водой контрастных температур с переменным электрическим током (ВТО+I) и последующим лазерным облучением. Если соотнести энергию, поглощаемую семенами, прошедшими водотермическую обработку совместно с переменным электрическим током и последующим лазерным облучением (ВТО+I+Л), к энергии, поглощаемой семенами после их (ВТО+Л) без электрического тока, то получим выражение для коэффициента повышения выхода хромосомных aberrаций, усиливающих стимуляционные процессы развития проростков, вызываемых переменным электрическим током:

$$K_{xa} = \frac{M_{вто+I+л} + H_{вто+I} + M_{э}}{M_{вто+л} + H_{вто}} ; \quad (76)$$

где $M_{вто+I+л}$ – лазерная энергия, поглощаемая семенами после их ВТО + I, Дж;

$H_{вто+I}$ – энтальпия, внутренняя энергия семян после их ВТО + I, Дж; $W_{э}$ – электрическая энергия, поглощаемая семенами при их ВТО + I, Дж; $M_{вто+л}$ – лазерная энергия, поглощаемая семенами после их ВТО, Дж; $H_{вто}$ – энтальпия, внутренняя энергия семян прошедших ВТО, Дж.

Далее приведены результаты исследований обработки семян разработанным способом с целью повышения выхода их хромосомных aberrаций. Выявлены изменения их физических, биологических и, в конечном счёте, генетических и морфологических параметров.

По полученным экспериментальным данным произведён расчёт коэффициента повышения выхода хромосомных aberrаций (88) и стимуляции роста проростков, построены графики и найдены аналитические

зависимости изменения физических параметров семян.

Поскольку, насыщение семян водой максимально увеличивает их поверхность облучения, были проведены исследования для определения режима максимального насыщения семян водой. Семена подвергались обработке водой различных пар контрастных температур (ВТО), что и выявило основной устойчивый стимуляционный режим обработки семян огурца сорта «Водолей». С увеличением количества влаги в семенах в процессе их водотермической обработки площадь поверхности семян увеличивается, что приводит к большему поглощению ими энергии лазерного излучения и повышению выхода хромосомных aberrаций.

Исследуя способы повышения выхода хромосомных aberrаций сравнивали два варианта обработки семян огурца сорта «Водолей» для определения лучшего из них. На одну группу семян перед их лазерным облучением в течении 1,5 часа воздействовали (ВТО) в стимуляционном режиме, вторую группу оставили сухой без изменения и так же воздействовали лазерным излучением в течении 1,5 часа.

После прорастания семян проводился цитогенетический анализ проростков обеих групп семян и по полученным результатам определены зависимости выхода хромосомных aberrаций в этих двух случаях:

а) для проростков, выросших из сухих семян после лазерного облучения:

$$K_{\text{хас}} = 1.9 \cdot 10^{-4} \cdot \tau^6 - 0.0089 \cdot \tau^5 + 0.1537 \cdot \tau^4 - 1.184 \cdot \tau^3 + 3.66 \cdot \tau^2 - 1.3 \cdot \tau + 1.2; \quad (77)$$

б) для проростков, выросших из семян, прошедших перед лазерным облучением водотермическую обработку:

$$K_{\text{хавто}} = -3.77 \cdot 10^{-4} \cdot \tau^7 + 0.01745 \cdot \tau^6 - 0.318 \cdot \tau^5 + 2.889 \cdot \tau^4 - 13.57 \cdot \tau^3 + 29.8 \cdot \tau^2 - 17.9 \cdot \tau + 1; \quad (78)$$

Разделив выражение (87) на выражение (86) получим коэффициент повышения выхода хромосомных aberrаций ($K_{\text{хa}}$):

$$K_{xa} = \frac{-3.77 \cdot 10^{-4} \cdot \tau^7 + 0.01745 \cdot \tau^6 - 0.318 \cdot \tau^5 + 2.889 \cdot \tau^4 - 13.57 \cdot \tau^3 + 29.8 \cdot \tau^2 - 17.9 \cdot \tau + 1}{1.9 \cdot 10^{-4} \cdot \tau^6 - 0.0089 \cdot \tau^5 + 0.1537 \cdot \tau^4 - 1.184 \cdot \tau^3 + 3.66 \cdot \tau^2 - 1.3 \cdot \tau + 1.2}; \quad (79)$$

Из сказанного выше ясно, что выход хромосомных aberrаций зависит от количества влаги в семенах, длительности лазерного облучения и физического состояния семян.

Для ускорения процесса поглощения семенами влаги и усиления процессов обмена веществ в клетках семян использовали ещё один стимулирующий фактор-переменный электрический ток.

В проводимых экспериментах измеряли электрическое сопротивление семян, с целью определения его минимального значения, что сказывается на потреблении семенами электрической энергии. Было выяснено, что электрическое сопротивление семян имеет минимальное значение при их обработке предлагаемым комплексным способом, т.е. при поочерёдной обработке семян водой контрастных температур с пропусканием через неё переменного электрического тока и последующего их лазерного облучения.

Сравнивали выход хромосомных aberrаций у проростков после воздействия на семена огурца сорта «Водолей» двух вариантов обработки: ВТО совместно с переменным электрическим током в стимуляционном режиме (Рисунок 24) и ВТО семян в стимуляционном режиме совместно с переменным электрическим током и последующим лазерным облучением от I до 140 минут. По результатам экспериментальных данных построены зависимости выхода хромосомных aberrаций (Рисунок 25).

При комплексной водотермической обработке семян водой контрастных температур (20 °С и 40 °С) совместно с переменным электрическим током и последующим лазерным облучением, наблюдается максимальный выход хромосомных aberrаций, в сравнении с другими способами их обработки и при этом максимальный стимуляционный рост проростков семян (Рисунок 25, кривая 2).

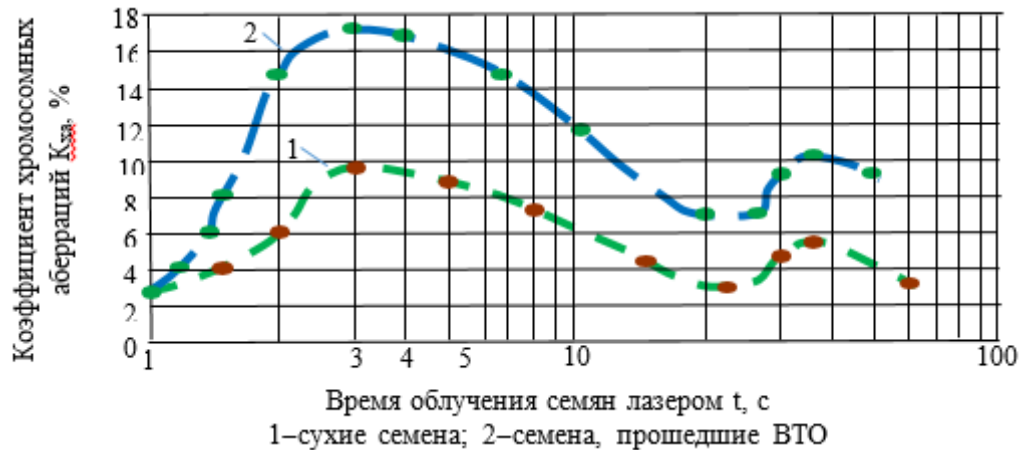


Рисунок 24. – Зависимость коэффициента хромосомных aberrаций K_{xa} семян огурца сорта «Водолей» от способа их обработки

Зависимость выхода хромосомных мутаций у корешков проростков, выросших из сухих семян с последующим лазерным облучением, можно записать в виде следующих выражений:

$$K_{xmc} = 1.9 \cdot 10^{-4} \cdot x^6 - 0.0089 \cdot x^5 + 0.1537 \cdot x^4 - 1.184 \cdot x^3 + 3.66 \cdot x^2 - 1.3 \cdot x + 1.2; \quad (80)$$

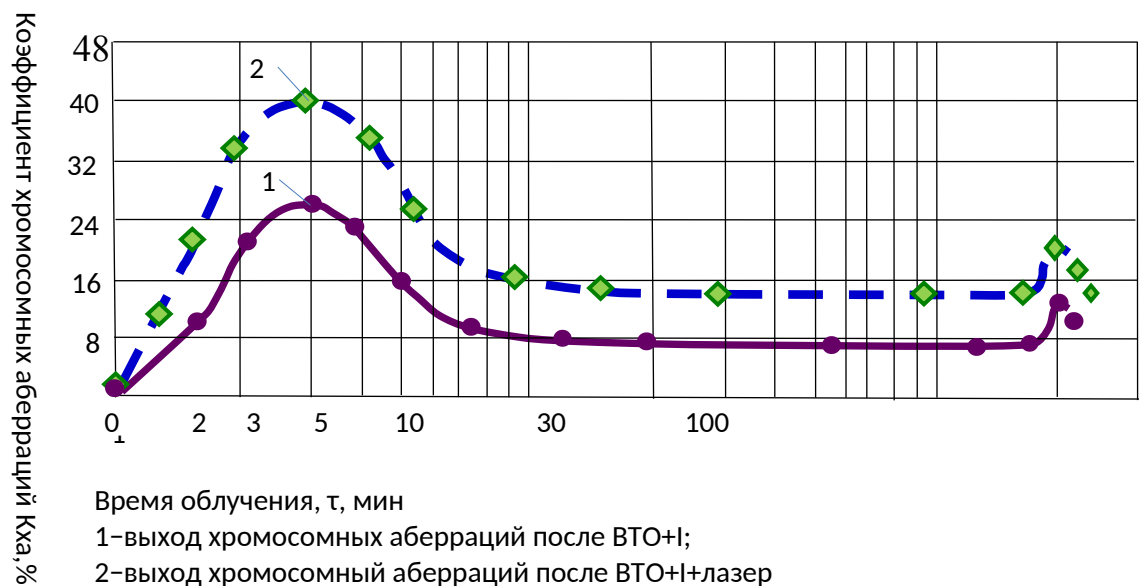


Рисунок 25. – Зависимость выхода хромосомных aberrаций у проростков семян огурца сорта «Водолей» от времени и способов их обработки

Зависимость выхода хромосомных aberrаций у корешков проростков, выросших из семян, прошедших ВТО с последующим лазерным облучением, можно записать в виде следующих выражений:

$$K_{xмсто} = -3.77 \cdot 10^{-4} \cdot x^7 + 0.01745 \cdot x^6 - 0.318 \cdot x^5 + 2.889 \cdot x^4 - 13.57 \cdot x^3 + 29.8 \cdot x^2 -$$

$$-17.9 \cdot x + 1; \quad (81)$$

Изменения выхода хромосомных aberrаций при различных способах обработки семян и поглощении ими энергии показано на рисунке 26. Было выяснено, что при комплексной обработке семян водой контрастных температур совместно с переменным электрическим током и последующим лазерным облучением наблюдается максимальное поглощение энергии воздействия и максимальный выход хромосомных aberrаций (Рисунок 26, кривая 4).

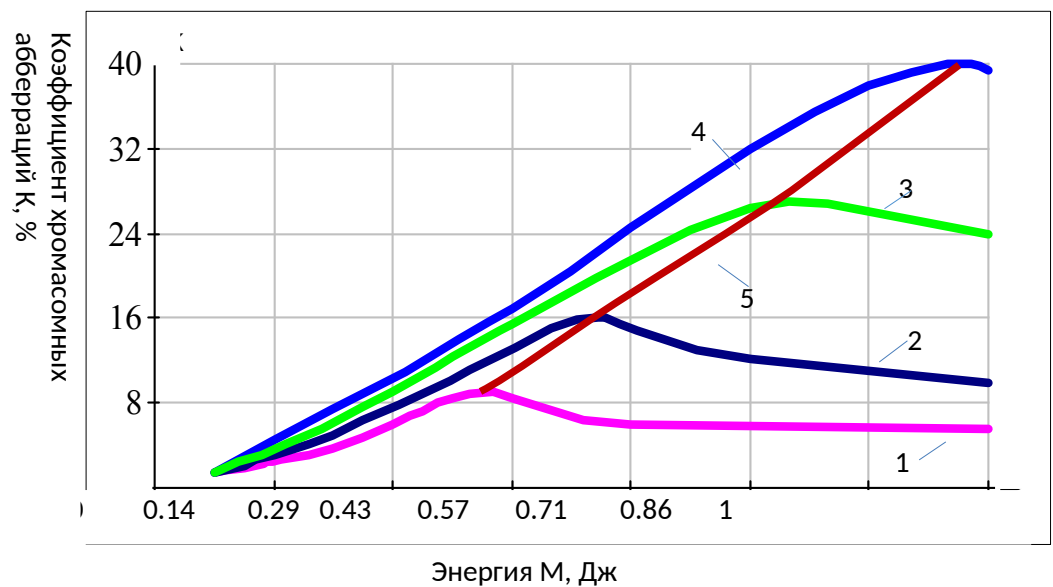


Рисунок 26. – Зависимость изменения коэффициента хромосомных aberrаций от количества поглощаемой семенами энергии при различных способах их обработки

Авторами установлена сложная зависимость стимуляционной длины проростков семян обработанных в оптимальном комплексном режиме и выхода хромосомных aberrаций (Рисунок 27).

Данная зависимость описывается уравнением:

$$L = -1.15 \cdot 10^{-5} \cdot K_{xa}^4 + 9.05 \cdot 10^{-4} \cdot K_{xa}^3 - 0.0214 \cdot K_{xa}^2 + 0.24 \cdot K_{xa} + 3.8; \quad (82)$$

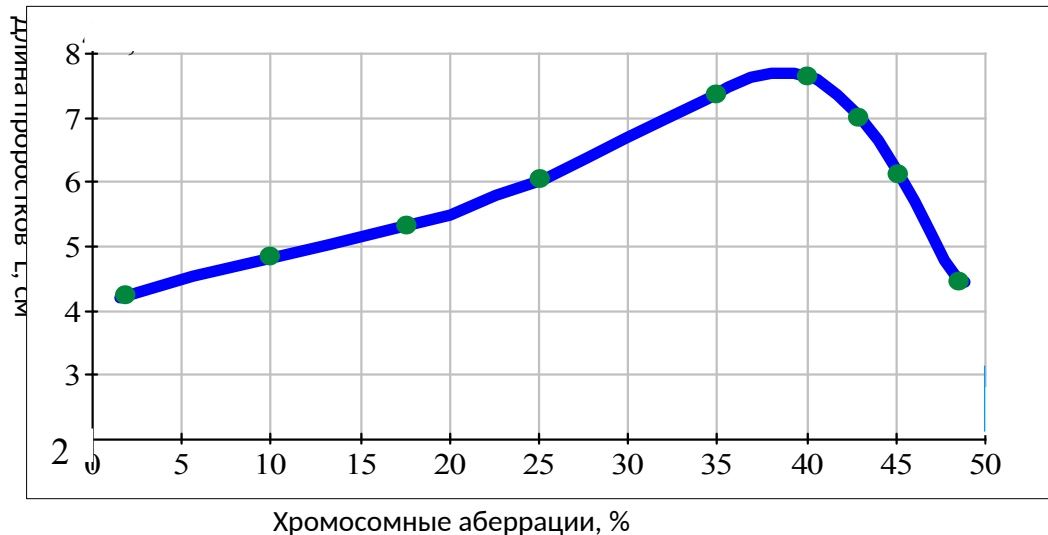


Рисунок 27. – Зависимость изменения длины проростков от количества хромосомных aberrаций

Для большей наглядности эффективности разработанного способа повышения выхода хромосомных aberrаций и связанных с ним стимуляций роста и развития проростков построена поверхность отклика (Рисунок 28).

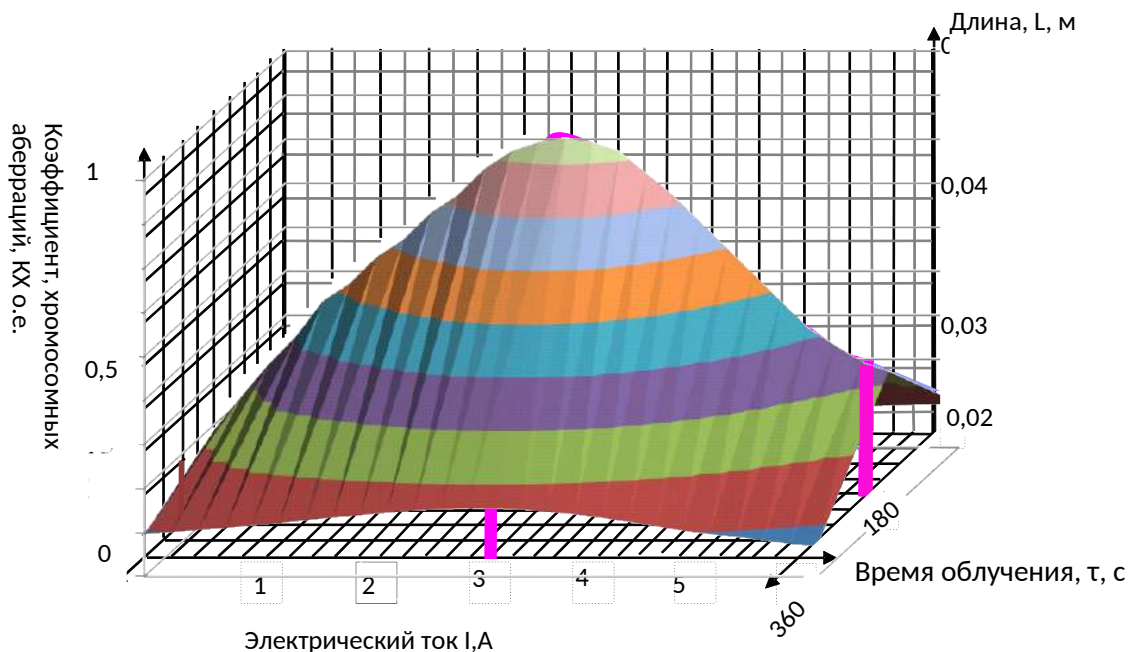


Рисунок 28. – Поверхность отклика длины проростков при режиме максимального насыщения семян водой (ВТО) с переменным электрическим током, последующим лазерным облучением семян в течение 3 минут, выходом хромосомных aberrаций, максимальной длиной проростков 0,05 м, при длине контрольных, не подвергавшихся обработке семян – 0,03 м

На основании экспериментальных данных и анализа известных работ по этой теме, разработано устройство для получения хромосомных aberrаций и стимуляции семян.

Были проведены лабораторные испытания разработанного устройства для проверки практической реализации способа на семенах огурца сорта «Водолей», дыни «Колхозницы», арбуза «Астраханский». Семена помещались в рабочую ёмкость, где смачивались водой контрастных температур 20 °С и 40 °С продолжительностью по 30 с каждой в течение 35–50 циклов с одновременным пропусканием через неё переменного электрического тока величиной от 1 до 3 А с последующим лазерным облучением их от 2 до 10 мин., с частотой $f = 33$ Гц и длительностью импульса 10 нс. Проводились испытания устройства также на семенах других с.-х. культур [43].

В результате цитогенетической проверки обработанных семян, подтверждена эффективность предлагаемого способа и устройства. Способ даёт максимальный стимуляционный эффект роста проростков и выхода хромосомных aberrаций, достигающий 30...50 % в сравнении с проростками, выросшими из необработанных семян (1,5 %), что увеличивает спектр и количество морфологических хозяйственно ценных признаков. На разработанные способы и устройство получены авторские свидетельства и патенты на изобретения в 1989, 2006, 2007, 2008 и 2018 годах.

По результатам проведённых исследований современных электротехнологий обработки семян, обоснован способ повышения выхода хромосомных aberrаций, усиливающих стимуляцию развития проростков и расширяющих спектр морфологических хозяйственно ценных признаков растений, включающий поочерёдную обработку семян водой контрастных температур одновременно с переменным электрическим током и последующим импульсным лазерным облучением.

Разработаны математические модели, устанавливающие количественные взаимосвязи водотермической обработки семян с

одновременным действием переменным электрическим током и последующим лазерным облучением и с показателями максимального увеличения количества хромосомных aberrаций, расширяющих спектр хозяйственно ценных морфологических изменений с.-х. культур.

Разработано многофункциональное устройство для комплексного электрофизического управления физиологическими процессами семян с.х. культур с программируемыми функциями процессов обработки семян водой контрастных температур (20 °С и 40 °С) с переменным электрическим током $1 \div 3$ А, последующим импульсным лазерным облучением частотой $f = 30 \div 35$ Гц, длительностью импульса $10 \div 20$ нс, мощностью в импульсе $200 \div 250$ кВт и длиной волны $\lambda = 547 \div 628$ нм.

Проведённые экспериментальные исследования предложенного способа и испытания разработанного устройства показали максимальное повышение выхода хромосомных aberrаций до 40-50 %, стимуляцию роста и развития проростков. Найдены варианты обработки семян для стимуляции роста и урожайности надземной части растений (огурца сорта «Водолей», арбуза «Астраханский» на 21–27 %), и при длительной обработке получили короткостебельные растения с увеличением урожайности подземной корневой части растений (сахарной свёклы ППГ-10 до 20–26 %). По полученным данным проведён расчёт срока окупаемости данного устройства, который составляет менее года.

Предлагаемые способы и устройство могут быть использованы в селекционных центрах с целью выведения новых сортов сельскохозяйственных культур, а также в хозяйствах по выращиванию овощных и зерновых культур для предпосевной стимуляции семян.