

УДК 58.04

ВЛИЯНИЕ ФУЛЛЕРЕНСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА РОСТОВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ЯРОВЫХ СОРТОВ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР: УСЛОВИЯ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭФФЕКТА ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ

© 2024 г. О. В. Ямскова¹, В. С. Романова¹, Д. В. Курилов², О. А. Шуклина³, *

¹ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, 119334 Россия

²ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, 119991 Россия

³ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва, 127276 Россия

*e-mail: oashuklina@gmail.com

Поступила в редакцию 21.01.2024 г.

После доработки 03.06.2024 г.

Принята к публикации 20.06.2024 г.

Предложен биотехнологический метод, основанный на использовании водных дисперсий, или коллоидных растворов, фуллеренсодержащих соединений для обработки семенного материала, обеспечивающий стимуляцию роста и способствующий повышению урожайности растений. Найдено, что водные дисперсии фуллерена C₆₀ и солей его аминокислотных производных обладают выраженной антиоксидантной активностью и широким рядом других свойств биологической активности. Показано ростостимулирующее действие, оказываемое на растения водными дисперсиями фуллерена C₆₀ и солей аминокислотных производных фуллерена C₆₀, эффективно проявляющееся в случае их применения для предпосевной обработки (замачивания) семян. В полевых опытах на примере яровой пшеницы сорта “Лада” продемонстрировано повышение урожайности растений, увеличение веса и количества зерен в колосе, которым способствовала предпосевная обработка семян в присутствии фуллеренсодержащих водных дисперсий. Предлагаемый биотехнологический подход имеет перспективы эффективного применения в сельском хозяйстве для обработки семенного материала и повышения показателей урожайности важных продовольственных культур.

Ключевые слова: фуллерен C₆₀, аминокислотные производные фуллерена C₆₀, яровая пшеница, урожайность, водная дисперсия, обработка семян

DOI: 10.56304/S0234275824050120

ВВЕДЕНИЕ

В районах с неблагоприятными климатическими условиями возникает необходимость в применении регуляторов роста (РР) в отношении имеющих важное значение сельскохозяйственных культур, в частности различных сортов пшеницы, с целью повышения их урожайности и устойчивости к неблагоприятным факторам. Так, культивирование сортов яровой и озимой пшениц в условиях Средней полосы Российской Федерации осуществляют на территориях с подзолистыми, дерновыми и подзолисто-дерновыми почвами, обладающими более низкой плодородностью в сравнении с черноземными почвами, которые находятся к то-

му же в более благоприятных в климатическом отношении Лесостепной и Степной зонах [1]. Известно, что эффективность действия РР зависит не только от его состава и условий выращивания растений; существенную роль также играет и способ его внесения в почву или доставки к растительному объекту [2]. РР могут быть внесены в сухой или растворенной формах посредством опрыскивания, полива, добавления в состав питательного раствора для культур, выращиваемых в гидропонной установке, а также для обработки семян [3].

Создание высокоэффективных экологически безопасных препаратов для повышения продуктивности и устойчивости агро- и экосистем – актуальная научно-прикладная задача, представляющая интерес для мирового сообщества, поскольку зоны рискованного земледелия присутствуют во многих странах [4]. За минувшее десятилетие наметилась тенденция, направленная на изучение влияния, оказываемого наноматериалами (НМ) на рост

Список сокращений: АБАП – 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид, АКПФн – N-замещенное аминокислотное производное фуллерена C₆₀, ВД – водная дисперсия, НМ – наноматериалы, ОАА – относительная антиоксидантная активность, УЗ – ультразвук, Фн – фуллерен C₆₀, РР – регулятор роста.

и развитие растений [5–8]. Исследования действия химических веществ, используемых в качестве регуляторов роста на развитие растения, метаболические процессы, биомассу его различных частей и урожайность позволяют выявить наиболее эффективные и экологически безопасные соединения. В качестве перспективной основы для разработки агропрепаратов нового поколения привлекают внимание, широко применяемые в настоящее время в биомедицинских исследованиях и фармакологии водорастворимые производные фуллеренов, обладающие наименьшей токсичностью для живых организмов, в частности, фуллеренов C₆₀, C₇₀.

Для стимуляции роста надземных и водных растений ранее были предложены фуллерен C₆₀ и его производные [9], эффекты биологического действия которых, как предполагают, обусловлены, в частности, способностью фуллеренового коагумента выступать в роли антиоксиданта [7]. Как указывалось выше, способ доставки фуллеренсодержащего РР к растительному объекту может оказывать существенное влияние на ростовые процессы. Так, при внесении фуллерена C₆₀ в водную среду обитания ряски горбатой (*Lemna gibba* L.) [10] или его использовании в сухой (кристаллической) форме в роли почвенной добавки для культур, таких как соевые бобы (*Glycine max* L. Merr.), кукуруза (*Z. mays* L.) и томат (*Solanum lycopersicum* L.) [11], наблюдалось подавление роста растений. Напротив, обработка водной дисперсией (коллоидным раствором) фуллеренола C₆₀(ОН)₂₀ (фуллеренового полигидроксилированного производного) семян дыни горькой (*Momordica charantia* L.) способствовала приросту биомассы и увеличению урожайности [12].

Из литературных источников известно, что присоединение к гидрофобному фуллереновому коагументу аминокислотного остатка способствует значительному увеличению мембранотропной активности и биодоступности фуллеренового производного [13]. Учитывая это, изучение воздействия аминокислотных производных фуллерена (АКПФн) позволит провести сравнительную оценку ростостимулирующего эффекта, оказываемого ими и самим фуллереном C₆₀. РР на основе фуллеренсодержащих ВД являются экологически безопасными, что обусловлено отсутствием острой токсичности у исследуемых соединений [14], их низкими концентрациями в ВД, а также небольшими объемами дисперсий, используемых для обработки семенного материала. Указанные преимущества убедительны и при сравнении фуллеренсодержащих ВД с воздействием солевых и органических удобрений, в результате использования которых происходит засоление и загрязнение почв [15]. В сравнении с общепринятыми растительными РР, такими как “Домоцвет”, “Циркон”, “Эпин” или “Биосил”, важное преимущество АКПФн состоит еще и в том, что они не требуют

многократного применения (например, при опрыскивании растений), а лишь разового использования (на этапе предпосевной обработки семян). Кроме того, низкие концентрации действующего вещества в составе ВД делает применение предлагаемых препаратов экономически выгодными. Важно упомянуть, что использование, в качестве РР, например, фитогормонов (ауксинов или гиббереллинов) имеет ряд недостатков, к которым, в частности, можно причислить необходимость приготовления раствора непосредственно перед употреблением в силу лабильности действующего соединения в растворенном состоянии. Приведенные факты указывают на необходимость поиска новых соединений и совершенствование методов для осуществления стимуляции роста растений.

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение влияния, оказываемого водными дисперсиями (ВД) или коллоидными растворами фуллерена C₆₀ (Фн) или калиевых солей *N*-замещенных аминокислотных производных фуллерена C₆₀ (АКПФн) на процесс проращивания семян яровой пшеницы, подбор оптимальных условий для доставки веществ-РР к растительному объекту, а также оценка ростостимулирующего эффекта (в лабораторном опыте) и влияния, оказываемого на показатели урожайности (в полевом опыте).

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Объекты исследования

Исследуемые (в составе ВД) ростостимулирующие фуллеренсодержащие соединения представлены в табл. 1.

Для выявления действия Фн и АКПФн на проращивание семян и урожайность использовали семенной материал яровой пшеницы сорта “Лада” (урожай 2014 г., 60%), полученный в рамках ГЗ 123120600005-2 и предоставленный из коллекции Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (ГБС РАН). Для обработки семян применяли ВД Фн (1) с концентрациями 10⁻⁹ М, приготовленные разбавлением дистиллированной водой исходной (насыщенной) ВД Фн. Исходную (насыщенную) ВД Фн готовили обработкой гетерогенной системы, состоящей из равных объемов насыщенного раствора фуллерена C₆₀ в толуоле и дистиллированной воды, ультразвуком (УЗ) с рабочей частотой 42 кГц и мощностью 50 Вт в УЗ-ванне Codyson CD-7810A (Codyson, Китай) [9]. Содержание фуллерена C₆₀ в приготовленной ВД определяли весовым методом. Соединения АКПФн (2–10) – калиевые соли *N*-замещенных фуллереновых аминокислотных (*L*- и *D*-аланина, *L*- и *D*-валина, *L*- и *D*-аспарагиновой кислоты, а также β-аланина, γ-аминомасляной и ε-аминокапроновой кислот) производных – и их соответствующие ВД (приме-

Таблица 1. Фуллеренсодержащие соединения и их обозначения
Table 1. Fullerenecontaining compounds and their designation

Обозначение, нумерация		Соединение (в составе ВД)	Формула
Фн	1	Фуллерен C ₆₀	C ₆₀
	2	<i>N</i> -(гидрофуллеренил)- <i>L</i> -аланин	H-C ₆₀ - <i>L</i> -Ala-OK
	3	<i>N</i> -(гидрофуллеренил)- <i>D</i> -аланин	H-C ₆₀ - <i>D</i> -Ala-OK
	4	<i>N</i> -(гидрофуллеренил)- <i>L</i> -валин	H-C ₆₀ - <i>L</i> -Val-OK
	5	<i>N</i> -(гидрофуллеренил)- <i>D</i> -валин	H-C ₆₀ - <i>D</i> -Val-OK
	6	<i>N</i> -(гидрофуллеренил)- <i>L</i> -аспарагиновая кислота	H-C ₆₀ - <i>L</i> -Asp-OK
АКПФн	7	<i>N</i> -(гидрофуллеренил)- <i>D</i> -аспарагиновая кислота	H-C ₆₀ - <i>D</i> -Asp-OK
	8	<i>N</i> -(гидрофуллеренил)-β-аланин	H-C ₆₀ -β-Ala-OK
	9	<i>N</i> -(гидрофуллеренил)-γ-аминомасляная кислота	H-C ₆₀ -ABA-OK
	10	<i>N</i> -(гидрофуллеренил)-ε-аминокапроновая кислота	H-C ₆₀ -ACA-OK

няемые для обработки семян в концентрации, равной 10⁻⁹ М) получены в Институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН [16].

Фуллерен C₆₀ (Фн, 1) предоставлен сотрудниками Лаборатории термохимии (Кафедра физической химии) МГУ им. М.В. Ломоносова.

Изучение свойств антиоксидантной активности фуллерена C₆₀ (Фн, 1) и аминокислотных производных фуллерена C₆₀ (АКПФн, 2–10)

В модельном эксперименте при изучении антиоксидантной активности соединений Фн (1) и АКПФн (2–10), находящихся в составе ВД, измеряли величины относительной антиоксидантной активности (ОАА), детектируя способность этих соединений защищать флуоресцирующий агент от атаки свободными радикалами [17]. Источником свободных радикалов служил склонный к термическому гомолитическому распаду 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид (АБАП) (Acros Organics, Бельгия), из которого в присутствии кислорода генерируются алкоксильные либо алкил-пероксидные свободные радикалы. В роли атакуемой свободными радикалами мишени использовали флуоресцеин (Acros Organics), изменяющуюся в эксперименте с течением времени концентрацию которого возможно детектировать с высокой точностью.

Растворы АБАП и флуоресцеина готовили в фосфатном буфере (75 мМ, рН 7.4), а затем их инкубировали при 37°C в течение 10 мин. В кювете флуориметра FluoroLog 3.21 (Horiba Scientific Ltd., Франция) сначала смешивали растворы флуоресцеина и исследуемого фуллеренсодержащего соединения, затем добавляли раствор АБАП, после

чего немедленно начинали фиксировать изменение интенсивности флуоресценции.

Флуоресценцию регистрировали при длине волны λ = 515 нм под прямым углом относительно пучка возбуждения в стандартной кварцевой кювете (1 см) при длине волны возбуждающего света λ = 491 нм. Интенсивности флуоресценции были скорректированы по отношению к чувствительности измеряющего фотоэлектронного умножителя. Температуру образца поддерживали при помощи термостата (Модель 12108-15, Cole-Parmer, США; 6 л, вода, нагрев/охлаждение, цифровой контроллер). Компоненты аналитического образца (за исключением инициатора) предварительно (перед смешиванием) термостатировали в течение 10 мин при 37°C. Температуру в кювете 37 ± 0.2°C уточняли при помощи ртутного термометра с шагом деления шкалы 0.1°C.

Зарегистрированные конечные концентрации компонентов смеси в кювете были следующими: 9.6 мМ (АБАП), 10⁻⁸ М (флуоресцеин) и 2.5 × 10⁻⁶ М (фуллеренсодержащее соединение). Для холостого опыта использовали фосфатный буфер (75 мМ), а в качестве препарата сравнения – тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-хроман-2-карбоновую кислоту; в концентрации 1.2 × 10⁻⁶ М) (Acros Organics). Значения величины ОАА, рассчитывали как отношение разностей площадей под кинетическими кривыми тушения флуоресценции соответственно для исследуемого образца фуллеренсодержащего соединения (S_{обп}) и тролокса (S_{тр}) с учетом холостого опыта ("бланка", т.е. без добавления антиоксидантов, S_{бл}), а также концентраций тролокса (C_{тр}) и исследуемого образца фуллеренсодержащего соединения (C_{обп}): ОАА = ((S_{обп} - S_{бл})/(S_{тр} - S_{бл}))(C_{тр}/C_{обп}).

*Измерение ростовых показателей,
наблюдаемых при проращивании семян
яровой пшеницы сортов “Лада” и “Воевода”*

Проращивание семян проводили в чашках Петри в соответствии с ГОСТом 12038-84 [18].

Отметим, что для используемых в работе (в составе ВД) значениях концентраций фуллеренсодержащих веществ плотность (d) ВД считаем равной 1.0 г/мл.

Для проращивания семена (по 100 шт.) промывали дистиллированной водой и помещали в чашки Петри (на поверхность фильтровальной бумаги), а затем их заливали аликвотой ВД Фн или ВД АКПФн (соответственно 5 или 25 мл, т.е. с соотношением объем (мл) ВД : вес (г) семян 1 : 1 или 1 : 5). Чашки Петри затем помещали в камеру-термостат (при 17°C) в присутствии освещения красным светом (с длиной волны 660 нм) или при отсутствии освещения (в темноте). Через 3–7 сут подсчитывали количество проросших и не проросших семян, а также измеряли длины образовавшихся ростков и корешков.

Статистический анализ экспериментальных данных проводили с применением t -критерия Стьюдента при уровне значимости $\alpha = 0.05$ (расчеты выполнены с использованием программного обеспечения STATISTICA 6.0, StatSoft Inc.).

Полевой опыт

Семена яровой пшеницы сорта “Лада” перед посевом предварительно замачивали при комнатной температуре (20°C) и дневном освещении в течение 18 ч с ВД Фн (1) или ВД АКПФн (3 или 9) при концентрации 10^{-9} М, а также с дистиллированной водой (контроль). В полевом опыте для высева на 5 м² посевной площади брали по 100 г семян, что соответствует норме высева (5 млн. шт. всхожих семян на 1 гектар). Для предпосевной обработки (замачивания) семян использовали приводимые ниже соотношения ВД и семенного материала.

Семена в чашках Петри обрабатывали ВД фуллеренсодержащих соединений при следующих трех (альтернативных) типах условий:

А – предварительно семена последовательно промывают 96%-ным этиловым спиртом и затем – дистиллированной водой; после чего семена замачивают при соотношении ВД (мл) и семян (г), равном 5 : 1;

Б – предварительную обработку семян этиловым спиртом не проводят; семена замачивают при соотношении ВД (мл) и семян (г), равном 5 : 1;

В – предварительную обработку семян этиловым спиртом не проводят; семена замачивают при соотношении ВД (мл) и семян (г), равном 1 : 1.

Предварительное промывание семян этиловым спиртом (см. условия А) проводят с целью оказать превентивное фунгицидное воздействие.

По окончании предпосевной обработки (замачивания) с использованием ВД фуллеренсодержащих соединений, осуществляемой в течение 18 ч, семена высевали в почву.

Посев семян проводили на Опытном участке Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН) на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве (с использованием сеялки модели “СН-16”) в период, рекомендованный как оптимальный [19] для климатических условий г. Москвы и Московской области.

Посев семян, обработанных ВД Фн, ВД АКПФн или дистиллированной водой (в случае контрольного опыта), осуществляли в 5-кратной повторности, размещая их (в соответствии с методикой [20] полевого опыта) друг относительно друга рандомизировано (в случайном порядке). Сбор урожая (при наступлении фазы полной спелости) проводили селекционным комбайном “Сампо-500” (Samro, Финляндия).

На 7 день после посева производили подсчет количеств проростков в рядах и оценивали влияние, оказываемое предпосевной обработкой семян ВД фуллеренсодержащих соединений на показатели полевой всхожести. После созревания урожая растения извлекали из почвы и определяли значения продукционных показателей. Показатели урожайности регистрировали в соответствии с двумя опытными схемами: упрощенной (для 10-ти визуально типичных растений, взятых из каждого варианта опыта) и развернутой (для всех растений, взятых из каждого варианта опыта).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из важнейших свойств биологической активности фуллерена C₆₀ и его производных, проявляемых в биологических системах, является антиоксидантная активность [21, 22]. Как известно, обработка растений антиоксидантами способствует увеличению их устойчивости к неблагоприятным факторам и стимуляции роста [23, 24].

В рамках настоящего исследования (в модельном эксперименте) получены данные по значениям величины ОАА (табл. 2), измеренным для находящихся в составе ВД соединений Фн (1) и АКПФн (2–10).

Как следует из приведенных в таблице данных наиболее высокую антиоксидантную активность проявляют АКПФн 3 и АКПФн 9. Фн 1 был введен в эксперимент в связи с его коммерческой доступностью, а также и с целью изучения сравнительного (Фн и АКПФн) влияния, оказываемого на ростовые показатели растений. Учитывая вы-

Таблица 2. Значения величины ОАА, измеренные для находящихся в составе ВД соединений Фн (1) и АКПФн (2–10)
Table 2. Values of RAA measured for the compounds Fn (1) and AAFnD (2–10) contained in the WD

Нумерация	Соединение (в составе ВД)	ОАА
1	C ₆₀	—*
2	H-C ₆₀ -L-Ala-OK	0.16 ± 0.02
3	H-C ₆₀ -D-Ala-OK	0.63 ± 0.10
4	H-C ₆₀ -L-Val-OK	0.27 ± 0.04
5	H-C ₆₀ -D-Val-OK	0.04 ± 0.01
6	H-C ₆₀ -L-Asp-OK	—*
7	H-C ₆₀ -D-Asp-OK	0.010 ± 0.002
8	H-C ₆₀ -β-Ala-OK	0.08 ± 0.01
9	H-C ₆₀ -ABA-OK	0.35 ± 0.05
10	H-C ₆₀ -ACA-OK	—*

Примечание: * Значение величины ОАА находится ниже предела детектирования.
Note: ** The RAA value is below the detection limit.

сокую эффективность ВД на основе АКПФн 3 и АКПФн 9 они были отобраны для их использования в качестве РР в полевом опыте

Для тестирования ростостимулирующей активности, проявляемой ВД Фн или ВД АКПФн, выбран способ обработки биологических объектов, состоящий в замачивании семян [13]. Во всех описываемых далее в работе экспериментах использовали ВД с концентрацией Фн, равной 10⁻⁹ М, которая позволяла детектировать ростостимулирующее действие [25]. С целью корректного сравнения получаемых экспериментальных результатов в случае АКПФн (2–10) использовались ВД с той же концентрацией действующего вещества (10⁻⁹ М).

Для выбора оптимальных условий предпосевной обработки и последующего полевого эксперимента были выбраны семена яровой пшеницы сорта “Лада” с пониженной всхожестью для достижения наиболее выраженного эффекта стимуляции роста и увеличения урожайности [26]. В экспериментах по проращиванию семян обрабатывали при помощи ВД Фн или ВД АКПФн, в которых были варьированы значения параметров освещенности и объема используемых ВД.

Данные по показателям энергии прорастания и лабораторной всхожести семян (рис. 1а–1с), а также по ростовым показателям (длин корней и проростков, рис. 2а–2с) получены в серии экспериментов при проращивании семян яровой пшеницы сорта “Лада” (по методу I, в чашках Петри)

с воздействием на них ВД, содержащими Фн (1) или АКПФн (2–10). (Подробности см. в разделе Условия экспериментов).

Примечательно, что среди полученных в лабораторных опытах экспериментальных данных, касающихся энергии прорастания, всхожести или ростовых показателей, отсутствовали такие, которые свидетельствовали бы о сильно выраженном эффекте, продемонстрированном каким-либо одним конкретным фуллеренсодержащим соединением (в составе ВД).

Согласно результатам, полученным в лабораторных опытах, соотношение объем (мл) ВД : масса (г) семян равное 1 : 1, при замачивании семян является оптимальным для увеличения показателей энергии прорастания и лабораторной всхожести. Следует отметить, что в экспериментах по проращиванию семян яровой пшеницы сорта “Лада” варьирование световых режимов для всех использованных ВД не выявило каких-либо преимуществ замачивания семян при отсутствии освещения (по сравнению с методикой, предполагающей проращивание семян в условиях естественного дневного освещения).

Полевой опыт с оценкой показателей урожайности яровой пшеницы сорта “Лада” проводили на образцах семян, подвергнутых предпосевной обработке ВД на основе Фн (1), а также АКПФн 3 или АКПФн 9 (см. табл. 1), отобранных в качестве наиболее перспективных в соответствии с

Рис. 1. Показатели энергии прорастания и лабораторной всхожести семян яровой пшеницы сорта “Лада”, полученные в лабораторном опыте при замачивании семян в ВД Фн (1) или ВД АКПФн (2–10) (или воды (дистиллированной), контроль) при 17°C; *a* – при соотношении объем (мл) ВД : вес (г) семян, равном 1 : 1 в отсутствие освещения (в темноте); *b* – при соотношении объем (мл) ВД : вес (г) семян, равном 1 : 1 и в присутствии освещения красным светом ($\lambda = 660$ нм); *c* – при соотношении объем (мл) ВД : вес (г) семян, равном 5 : 1 и в присутствии освещения красным светом ($\lambda = 660$ нм).

Fig. 1. Characteristics of germination energy and laboratory germination of seeds of spring wheat variety “Lada”, obtained in a laboratory experiment by soaking seeds in WD Fn (1) or WD AAFnD (2–10) (or water (distilled), control) at 17°C; *a* – at a ratio of volume (ml) WD : weight (g) of seeds equal to 1 : 1 in the absence of lighting (in the dark); *b* – at a ratio of volume (mL) WD : weight (g) of seeds equal to 1 : 1 and in the presence of illumination with red light ($\lambda = 660$ nm); *c* – at a ratio of volume (mL) WD : weight (g) of seeds equal to 5 : 1 and in the presence of illumination with red light ($\lambda = 660$ nm).

результатами, полученными в предшествующих лабораторных опытах.

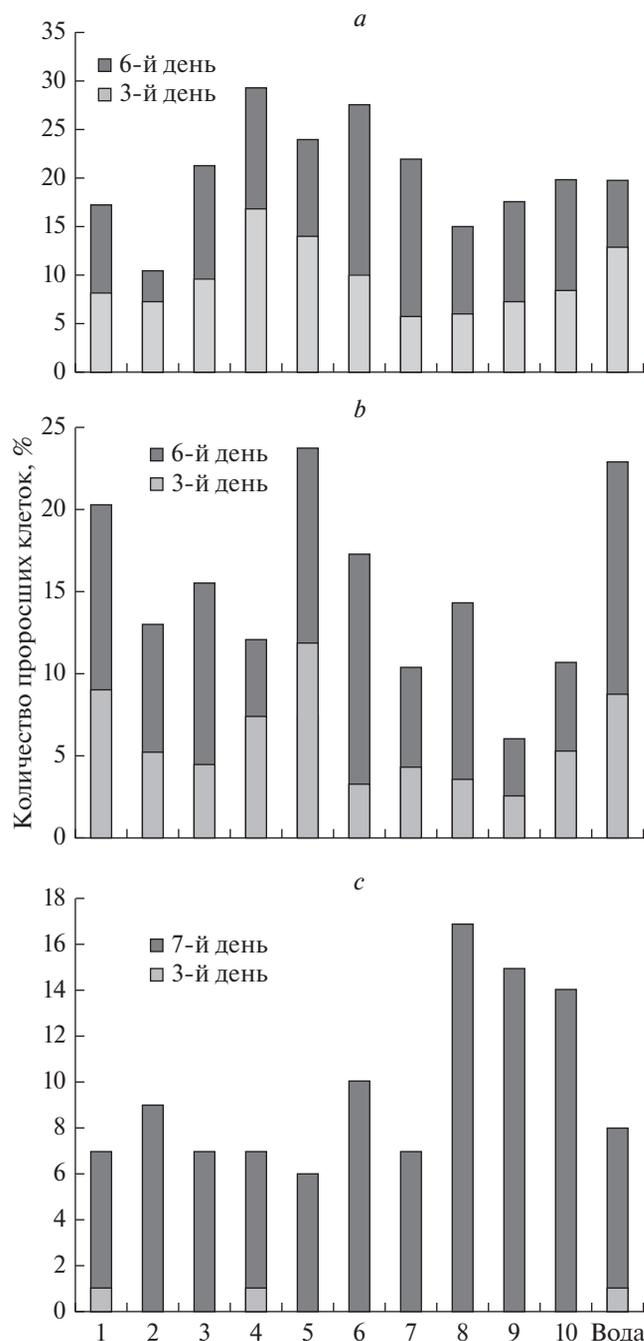
Полевой опыт осуществлен в трех (альтернативных) типах условий (А, Б или В), описанных выше, при использовании ВД с концентрацией фуллеренсодержащих веществ, равной 10^{-9} М.

В полевом опыте для оценки показателей полевой всхожести и устойчивости растений к неблагоприятным факторам регистрировали долю семян, давших проростки на 7 день после посева, а также количество растений, присутствующих на момент сбора урожая (рис. 3).

Влияние, оказываемое ВД Фн (1), а также ВД АКПФн (3 или 9) на основные продукционные показатели, регистрируемые в полевом опыте, приведены в табл. 3.

Данные по продукционным показателям (структуре) урожая, полученные в полевом опыте с предпосевной обработкой семян, проведенной с использованием ВД Фн в условиях типа В, представлены в табл. 4.

Согласно результатам, полученным в полевом опыте (см. рис. 3), полевая всхожесть, зафиксированная в случае предпосевной обработки семян, проводившейся в условиях типа В, выше чем в условиях типов А или Б. Между тем количество растений, регистрируемых в полевом опыте на момент сбора урожая, в большинстве случаев варьируется и зависит от условий проводимой предпосевной обработки семян, а также применяемого в составе ВД фуллеренсодержащего соединения. Наиболее высокий показатель по количеству растений в полевом опыте на момент сбора урожая, наблюдается в случае предпосевной обработки семян, проводимой в условиях типа Б (в том слу-



чае, когда отсутствует обработка семян этанолом и, кроме того, берется избыток объема соответствующей ВД). Этот результат, полученный в полевом опыте, свидетельствует о выраженном проявлении эффекта повышения устойчивости к неблагоприятным факторам растений яровой пшеницы сорта “Лада”, в случае осуществления предпосевной обработки семян с использованием ВД на основе

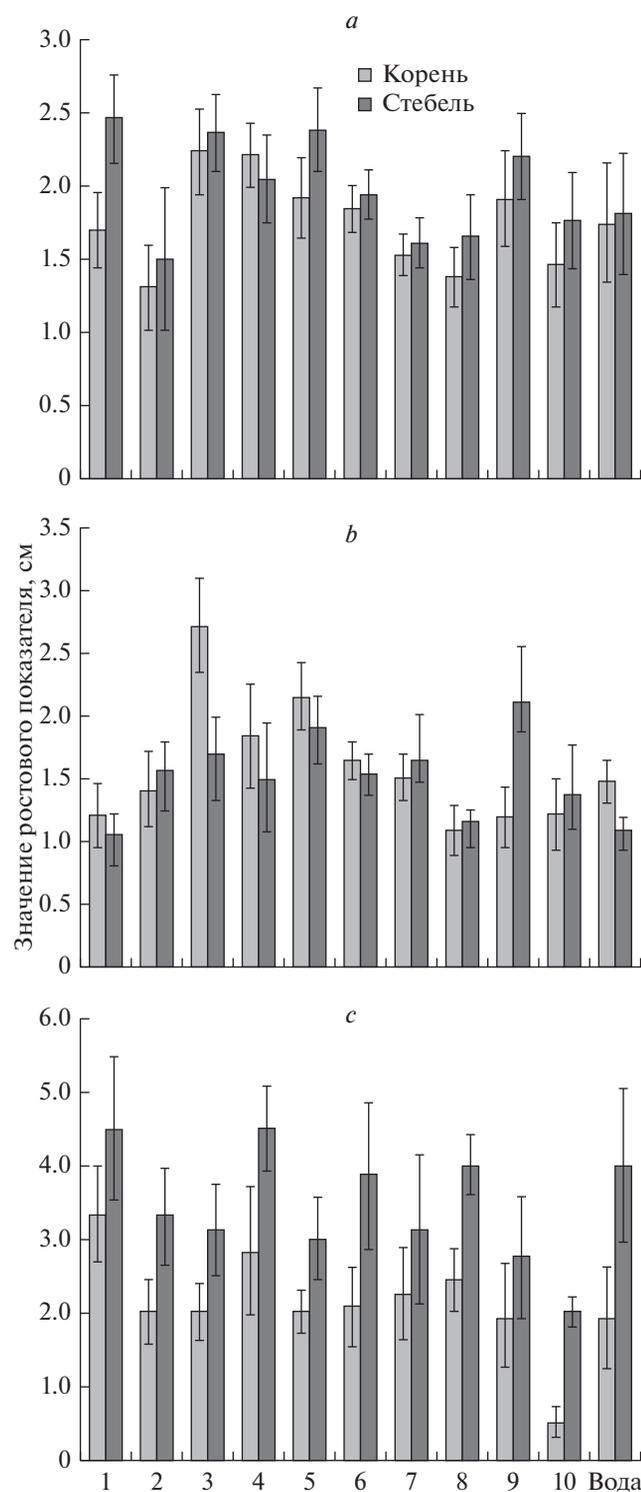


Рис. 2. Показатели длин корней и проростков яровой пшеницы сорта "Лада" (на 6 день прорастивания семян), полученные в лабораторном опыте при замачивании семян с использованием ВД Фн (1) или ВД АКПФн (2–10) (или воды (дистиллированной)) при 17°C. *a* – при соотношении объем (мл) ВД : вес (г) семян, равном 1 : 1, при 17°C и в отсутствие освещения (в темноте); *b* – при соотношении объем (мл) ВД : вес (г) семян, равном 1 : 1 и в присутствии освещения красным светом ($\lambda = 660$ нм); *c* – при соотношении объем (мл) ВД : вес (г) семян, равном 5 : 1 и в присутствии освещения красным светом ($\lambda = 660$ нм).

Fig. 2. Characteristics of the lengths of roots and seedlings of spring wheat variety "Lada" (on the 6th day of seed germination), obtained in a laboratory experiment when soaking seeds using WD Fn (1) or WD AAFnD (2–10) (or water (distilled)) at 17°C; *a* – at a ratio of volume (mL) WD : weight (g) of seeds equal to 1 : 1 in the absence of lighting (in the dark); *b* – at a ratio of volume (mL) WD : weight (g) of seeds equal to 1 : 1 and in the presence of illumination with red light ($\lambda = 660$ nm); *c* – at a ratio of volume (mL) WD : weight (g) of seeds equal to 5 : 1 and in the presence of illumination with red light ($\lambda = 660$ nm).

также ВД АКПФн 3 или ВД АКПФн 9 – с концентрацией действующего вещества, равной 10^{-9} М, и объемом ВД, эквивалентным влагоемкости семян – способствует повышению урожайности (в сравнении с контрольным опытом). Подтверждением этого служат данные по структуре урожая (см. табл. 4), полученные в случае предпосевной обработки (замачивания) семян пшеницы сорта "Лада", осуществленной с использованием ВД Фн (1) (в условиях типа В).

Отмечено увеличение продукционных показателей, таких как количество растений, присутствующих на момент сбора урожая, биомасса зерна, а также количество зерен в одном колосе.

Таким образом, предлагаемый в настоящей работе биотехнологический метод, основанный на использовании водных дисперсий (ВД), или коллоидных растворов на основе фуллерена C_{60} (Фн), а также ВД калиевых солей аминокислотных производных фуллерена C_{60} (АКПФн), в частности калиевых солей *N*-(гидрофуллеренил)-*D*-аланина или *N*-(гидрофуллеренил)- γ -аминомасляной кислоты, и присутствующих в ВД для обработки семенного материала, на примере яровой пшеницы сорта "Лада" оказывает влияние на ростовые показатели растений и способствует стимуляции роста проростков, повышению устойчивости растений к неблагоприятным факторам и увеличению показателей урожайности. Предпосевная обработка растительных объектов РР, которая заключается в замачивании семенного материала, представляется оптимальной как с экологической, так и с экономической точек зрения в силу применяемой (и эффективно действующей) в составе ВД низкой концентрации вещества (Фн или АКПФн), равной

фуллеренсодержащих соединений, при этом важное значение имеет объем используемой ВД.

Полученные в полевом опыте результаты, кроме того, показывают, что предпосевная обработка семян пшеницы с использованием ВД Фн (1), а

Доля семян, образовавших проростки на 7 день после посева и растения на момент сбора урожая, %

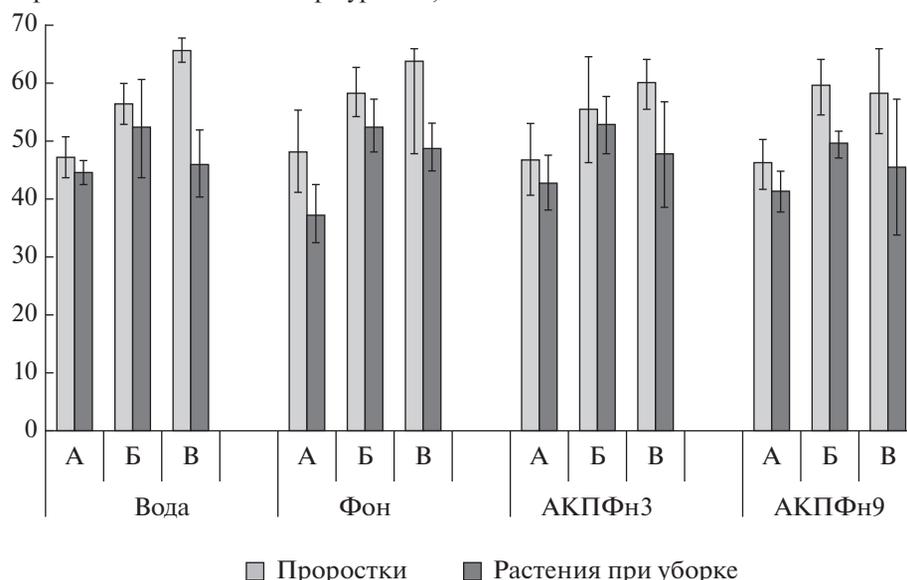


Рис. 3. Полученные в полевом опыте показатели всхожести (на 7 день после посева) и количество растений (на момент сбора урожая) яровой пшеницы сорта “Лада”. Данные представлены для случаев трех альтернативных типов условий (А, Б или В) предпосевной обработки семян ВД Фн (1), а также ВД АКПФн (3 или 9).

Fig. 3. The germination characteristics obtained in the field experiment (on the 7th day after sowing) and the number of plants (at the time of harvest) of spring wheat of the variety “Lada”. The data are presented for the cases of three alternative types of conditions (A, B or C) of pre-sowing seed treatment with WD Fn (1), as well as with WD AAFnD (3 or 9).

10⁻⁹ М, что исключает токсическое загрязнение окружающей среды.

Полученные в работе результаты убедительно свидетельствуют в пользу того, что предлагаемый биотехнологический подход имеет перспективы

эффективного применения в сельском хозяйстве с целью обработки семенного материала, повышения устойчивости растений к неблагоприятным факторам и показателей урожайности важных продовольственных культур. Для широкого

Таблица 3. Влияние, условий предпосевной обработки семян ВД Фн (1), а также ВД АКПФн (3 или 9) на показатели урожайности и зерновой биомассы яровой пшеницы сорта “Лада” (относительно контрольного опыта)
Table 3. Influence of pre-sowing seed treatment conditions with WD Fn (1), as well as WD AAFnD (3 or 9) on the yield and grain biomass of spring wheat variety “Lada” (relative to the control experiment)

Соединение (в составе ВД)	Тип условий предпосевной обработки семян фуллеренсодержащей ВД					
	А		Б		В	
	продукционные показатели, %*					
	урожайность	вес 1000 зерен, г	урожайность	вес 1000 зерен, г	урожайность	вес 1000 зерен, г
C ₆₀ (Фн, 1)	109.1	101.8	93.0	93.0	115.0	105.1
H-C ₆₀ -D-Ala-OK (АКПФн, 3)	104.5	98.2	90.7	90.7	142.2	110.9
H-C ₆₀ -ABA-OK (АКПФн, 9)	111.4	103.5	89.5	90.7	146.9	109.6

Примечание: Значения продукционных показателей (урожайность и вес зерен) рассчитаны как относительные (%) величины (в сравнении с соответствующими значениями, наблюдаемыми в контрольном опыте). Значения агрохимических показателей плодородия почвы могут претерпевать ощутимое варьирование в пределах от одного земельного участка к другому.

Note: The values of production indicators (yield and grain weight) are calculated as relative (%) values (in comparison with the corresponding values observed in the control experiment). The values of agrochemical indicators of soil fertility can undergo significant variations from one plot of land to another.

Таблица 4. Продукционные показатели урожая яровой пшеницы сорта “Лада”, полученные в полевом опыте с предпосевной обработкой семян ВД Фн (при концентрации 10^{-9} М)
Table 4. Productive yield indicators of spring wheat variety “Lada”, obtained in a field experiment with pre-sowing seed treatment with WD Fn (at a concentration of 10^{-9} M)

Соединение (в составе ВД)	Доля* семян, образовавших проростки на 7 день, %	Доля* семян, образовавших растения на момент сбора урожая, %	Число колосьев на одно растение	Средняя длина колоса, см	Число зерен на один колос	Масса зерна на одно растение, г	Масса 1000 зерен, г	Масса зерна/м ² , г
Фн	62	51	0.9	6.8	22.5	0.7	33.4	225.3
	63	51	1.0	6.8	22.5	0.8	33.2	260.3
	66	44	0.9	7.1	21.7	0.6	32.8	185.2
	64	48.7	0.95	6.9	22.1	0.7	33.1	223.6
	67	42	1.0	7.6	18.9	0.6	31.0	160.4
Вода (дистил- лированная), контроль	64	50	1.0	8.2	22.3	0.7	32.0	228.7
	66	46	1.0	7.9	20.6	0.65	31.5	194.5

Примечание: * Доли семян (образовавших проростки на 7 день после посева или растения на момент сбора урожая) рассчитаны как соответствующие отношения (%) зарегистрированных в указанные сроки количеств семян или растений к общему исходному количеству высеянных семян.

Note: The rates of seeds (which formed seedlings on the 7th day after sowing) or plants (at the time of harvest) are calculated as the corresponding ratios (%) of the quantities of seeds or plants registered at the specified time to the total initial number of sown seeds.

сельскохозяйственного использования в качестве ростостимулирующего средства относительное преимущество имеет ВД на основе Фн в силу большей коммерческой доступности немодифицированного фуллера С₆₀.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят за участие в работе и предоставленные экспериментальные данные Воронкову Татьяну Владимировну (ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, г. Москва; проращивание семян), а также Волкова Владимира Анатольевича и Воронкова Михаила Викторовича (ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва; измерение антиоксидантной активности).

Исследования проведены при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации с использованием научного оборудования ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 075-03-2023-642 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Стифеев А.И., Бессонова Е.А., Никитина О.В., Лукьянов В.А., Судженко Е.Н.* Состояние почв российской Федерации и основные направления стабилизации и повышения их плодородия. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*, 2015, 1, 49–52.
2. *Calvo P., Nelson L., Kloepper J.W.* Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil*, 2014, 383 (1–2), 3–41. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>
3. *Sible C., Seebauer J., Below F.E.* Plant Biostimulants: A Categorical Review, Their Implications for Row Crop Production, and Relation to Soil Health Indicators, *Agronomy*, 2021, 11(7), 1297. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071297>
4. *Komarek A.M., de Pinto A., Smith V.H.* A review of types of risks in agriculture: What we know and what we need to know, *Agric. Syst.*, 2020, 178, 102738. <https://doi.org/10.1016/j.agry.2019.102738>
5. *Nair R., Varghese S.H., Nair B.G., Maekawa T., Yoshida Y., Kumar D. S.* Nanoparticle material delivery to plants, *Plant Sci.*, 2010, 179(3), 154–163. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.04.012>

6. Rico C.M., Majumdar S., Duarte-Gardea M., Peralta-Videa J.R.†, Gardea-Torresdey J.L. Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain, *J. Agric. Food Chem.*, 2011, 59(8), 3485–3498.
<https://doi.org/10.1021/jf104517j>
7. Husen A., Siddiqi K.S. Carbon and fullerene nanomaterials in plant system, *J. Nanobiotechnol.*, 2014, 12, 16.
<https://doi.org/10.1186/1477-3155-12-16>
8. Zaytseva O., Neumann G. Carbon nanomaterials: production, impact on plant development, agricultural and environmental applications, *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 2016, 3, 17.
<https://doi.org/10.1186/s40538-016-0070-8>
9. Ямскова О.В., Курилов Д.В., Воронкова Т.В., Карташов М.И., Кондратьева В.В., Олехнович Л.С., Енина О.Л., Уелниек В.П., Завгородний С.В., Шуклина О.А. Способ повышения урожайности зерновых культур. Патент RU № 2772654, опубл.25.05.2022, бюл № 15.
10. Santos S.M.A., Dinis A.M., Rodrigues D.M.F., Peixoto F., Videira R.A., Jurado A.S. Studies on the toxicity of an aqueous suspension of C₆₀ nanoparticles using a bacterium (gen. Bacillus) and an aquatic plant (Lemna gibba) as in vitro model systems. *Aquat. Toxicol.*, 2013, 142–143, 347–354.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.09.001>
11. De La Torre-Roche R., Hawthorne J., Deng Y.Q., Xing B., Cai W., Newman L.A., Wang Q., Ma X., Hamdi H., White J.C. Multiwalled carbon nanotubes and C₆₀ fullerenes differentially impact the accumulation of weathered pesticides in four agricultural plants. *Environ. Sci. Technol.*, 2013, 47(21), 12539–12547.
<https://doi.org/10.1021/es4034809>
12. Kole C., Kole P., Randunu K.M. Choudhary P., Podila R., Ke P.C., Rao A.M., Richard K Marcus R.K. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (Momordica charantia). *BMC Biotechnol.*, 2013, 13, 37.
<https://doi.org/10.1186/1472-6750-13-37>
13. Думнис М.А., Николаев Д.Н., Литасова Е.В., Ильин В.В., Брусина М.А., Пиотровский Л.Б. Биологическая активность фуллеренов – реалии и перспективы. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*, 2018, 16, 1, 4–20.
<https://doi.org/10.17816/RCF1614-20>
14. Kolosnjaj J., Szwarc H., Moussa F. Toxicity studies of fullerenes and derivatives. *Adv Exp Med Biol.*, 2007, 620, 168–180.
https://doi.org/10.1007/978-0-387-76713-0_13
15. Гладышев В.П., Пьяных Г.М., Колесникова Е.В., Нуриахметова Н.Р. Минеральные удобрения как источник загрязнения почв и сельскохозяйственной продукции тяжелыми металлами. *Вестник Томского государственного педагогического университета*, 2000, 9, 25, 24–27.
16. Романова В.С., Цырякин В.А., Ляховецкий Ю.И., Парнес З.Н., Вольгин М.Е. Присоединение аминокислот и дипептидов к фуллерену C₆₀ с образованием монокислот. *Изв. РАН. Сер хим.*, 1994, 1154–1155.
<https://doi.org/10.1007/BF01558092>
17. Orzel J., Daszykowski M. A. rapid validation of the antioxidant capacity of food commodities based on their fluorescence excitation emission spectra as applicable to coffee and peppermint extracts. *Chemom. Intel. Lab. Syst.*, 2014, 137, 74–81.
<https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2014.06.014>
18. Межгосударственный стандарт. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести: ГОСТ 12038–84. Разработчики: Зайцев В.И., Корсакова О.М., Хорошайлов Н.Г., Антонов И.В., Борщ Л.Н., Демкин А.П., Ильинская Л.Р., Калюшина З.М., Калюжный А.И., Каменская Н.Н., Квасников В.В., Корнейчук В.А., Котова С.А., Мельникова Т.М., Меловидова А.А., Микшун Т.А., Путинцев А.Ф., Рагулин М.С., Фоканов А.М., Чалый И.И., Щербакова Л.М., Яцун И.И. Дата введения 01.07.1986. Официальное издание: М.: Стандартинформ, 2011. 64 с.
19. Шуклина О.А., Завгородний С.В., Квитко В.Е., Аленичева А.Д. Оценка перспективных селекционных линий яровых пшенично-пырейных гибридов на тяжелосуглинистых дерново-подзолистых почвах. *Труды Кубанского государственного аграрного университета*, 2023, 106, 352–356.
<https://doi.org/10.21515/1999-1703-106-352-356>
20. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта: учеб. для с.-х. вузов. М.: Агропромиздат., 1985, 351 с.
21. Grebowski J., Konopko A., Krokosz A., DiLabio G.A., Litwinienko G. Antioxidant activity of highly hydroxylated fullerene C₆₀ and its interactions with the analogue of α-tocopherol. *Free Radic. Biol. Med.*, 2020, 160, 734–744.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.08.017>
22. Galvan Y.P., Alperovich I., Zolotukhin P., Prazdnova E., Mazanko M., Belanova A., Chistyakov V. Fullerenes as Anti-Aging Antioxidants. *Curr. Aging Sci.*, 2017, 10(1), 56–67.
<https://doi.org/10.2174/1874609809666160921120008>
23. de Queiroz A.R., Hines C., Brown J., Sahay S., Vijayan J., Stone J.M., Bickford N., Wuellner M., Glowacka K., Buan N.R., Roston R.L. The effects of exogenously applied antioxidants on plant growth and resilience, *Phytochem. Rev.*, 2023, 22, 407–447.
<https://doi.org/10.1007/s11101-023-09862-3>
24. Ambros E.V., Chertenkova E.I., Toluzakova S.Y., Trofimova E.G., Novikova T.I. Effect of antioxidants and growth regulators on shoot organogenesis in the apical meristem culture of *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier. *Proceedings of Universities Applied Chemistry and Biotechnology*, 2021, 11(4), 549–560.
<https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-4-549-560>
25. Ямскова О.В., Шуклина О.А., Романова В.С., Курилов Д.В., Лозинский В.И. Оценка функциональности криогенно-структурированных крахмальных матриц при их использовании в качестве гелевых подложек для проращивания семян и определения активности стимуляторов роста растений, *Биотехнология*, 2023, 39(6), 119–126.
<https://doi.org/10.56304/S0234275823060145>
26. Talaat N.B., Hanafy A.M.A. Plant growth stimulators improve two wheat cultivars salt-tolerance: Insights into their physiological and nutritional responses, *Plants*, 2022, 11, 3198.
<https://doi.org/10.3390/plants11233198>

Effect of Fullerene-Containing Compounds on Growth Parameters of Spring Cereal Plants: Seed Treatment Conditions for Yield Enhancement Effect

O. V. Yamskova^a, V. S. Romanova^a, D. V. Kurilov^b, and O. A. Schuklina^{c, #}

^aA.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of Russian Academy of Science, Moscow, 119334 Russia

^bN.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

^cN.V. Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 127276 Russia

[#]e-mail: oashuklina@gmail.com

Abstract—A biotechnological method based on the use of aqueous dispersions, or colloidal solutions, of fullerene-containing compounds for the treatment of seed material, which provides growth stimulation and contributes to the increase in plant yield, has been proposed. It was found that aqueous dispersions of fullerene C₆₀ and salts of amino acid derivatives of fullerene C₆₀ possess pronounced antioxidant activity and a wide range of other properties of biological activity. The growth-stimulating effect of aqueous dispersions of fullerene C₆₀ and salts of amino acid derivatives of fullerene C₆₀ on plants was shown to be effective in case of their application for pre-sowing treatment (soaking) of seeds. In field experiments on the example of spring wheat of “Lada” variety, the increase in plant yield, weight and number of grains in the ear, which was promoted by presowing treatment of seeds in the presence of fullerene-containing aqueous dispersions, was demonstrated. The proposed biotechnological approach has prospects for effective application in agriculture for seed treatment and increasing yields of important food crops.

Keywords: Fullerene C₆₀, fullerene C₆₀ amino acid derivatives, spring wheat, productivity, aqueous dispersion, seed treatment