

Воздействие наночастиц цинка на морфометрические показатели и пигментный аппарат *Raphanus sativus* L., *Lepidium sativum* L. и *Avena sativa* L.*

Л.В. Галактионова, к.б.н., И.З. Губайдуллина, магистрант, С.В. Лебедев, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Оренбургский ГУ; И.А. Гавриш, мл.н.с., ФГБНУ Всероссийский НИИМС

В настоящее время с введением и развитием нанотехнологий особую остроту приобретают проблемы, которые связаны с возможным воздействием техногенных наночастиц (НЧ) на жизнедеятельность растений. Растительные организмы являются доступными и разнообразными объектами. Они используются в скрининг-исследованиях, которые дают возможность оценить как специфичность воздействия НЧ, так и дозозависимые эффекты (чувствительность растений рассматривают как индикатор экотоксичности наноматериалов). Растения представляют интерес для исследователя и как высокоинформативные экспериментальные модели, позволяющие проанализировать большие объёмы биологического материала в полевых условиях и в условиях модельного эксперимента.

Имеющиеся доступные немногочисленные литературные источники по биотестированию опасности НЧ не дают чётких представлений об их воздействии на растительный организм. Они либо крайне противоречивы относительно влияния наноматериалов на рост корней, скорость прорастания семян и надземной части растений, либо трудно сопоставимы как по размерности и дозам НЧ, так и по видам растений и ограничены в основном попытками оценить чувствительность растений по изменению морфологических показателей [5].

Соотношение хлорофилл $a+b$ /каротиноиды стабильно и быстро реагирует на экстремальные факторы среды. Концентрация фотосинтетических пигментов определяет активность фотосинтетического аппарата, скорость накопления ассимилянтов, что в результате отражается на продуктивности и росте растений [6].

Целью данной работы является оценка влияния наночастиц цинка на морфометрические показатели и пигментный аппарат растений тест-объектов.

Материал и методы исследования. Выбор НЧ Zn обусловлен их двойственной ролью в жизни растений: биогенной функцией и токсичностью воздействия при высоких концентрациях.

Подготовку почв, представленных чернозёмом южным, к модельному эксперименту осуществляли согласно общепринятой методике. Для эксперимента были выбраны следующие концентрации НЧ в почвах: 50; 100; 200 и 400 мг/кг. Водные суспензии наночастиц предварительно готовили согласно ТУ 931800-4270760-96 в ультразвуковой

ванне «Сапфир» в течение 60 мин. и вносили в почвенные образцы.

Были поставлены эксперименты для наночастиц Zn в разных концентрациях, все варианты в 3-кратной повторности. Осуществляли посев семян по схеме: I вариант – контрольный (К) – почва с внесением семян *Raphanus sativus* L., *Lepidium sativum* L. и *Avena sativa* L. без НЧ; II вариант – Zn₅₀ – почва с внесением семян *Raphanus sativus* L., *Lepidium sativum* L. и *Avena sativa* L., загрязнённая НЧ в концентрации 50 мг/кг; III вариант – Zn₁₀₀ – почва с внесением семян *Raphanus sativus* L., *Lepidium sativum* L. и *Avena sativa* L., загрязнённая НЧ в концентрации 100 мг/кг; IV вариант – Zn₂₀₀ – почва с внесением семян *Raphanus sativus* L., *Lepidium sativum* L. и *Avena sativa* L., загрязнённая НЧ в концентрации 200 мг/кг; V вариант – Zn₄₀₀ – почва с внесением семян *Raphanus sativus* L., *Lepidium sativum* L. и *Avena sativa* L., загрязнённая НЧ в концентрации 400 мг/кг.

Энергию прорастания и всхожесть определяли в соответствии с ГОСТом 12038-84 [1, 2]. Выделение пигментов и расчёт их содержания проводили по методике Н.Д. Смашевского, (2011 г.) [3]. Содержание хлорофилла и каротиноидов определяли на вес сырой зелёной массы.

Результаты исследования. Поскольку успешное применение биотестирования для диагностики экологического состояния того или иного объекта во многом зависит от правильного подбора тест-организма, нами были использованы три растения тест-объекта из представителей классов однодольных и двудольных. Наиболее распространёнными показателями, на основании которых проводят оценку воздействия загрязнителей, являются всхожесть, биомасса растений и длина корней.

Как известно, Zn – важный микроэлемент для растений. Рост как интегральный процесс является одним из важных показателей адаптации растений к условиям обитания. Он выполняет сложную функцию многих физиолого-биохимических процессов. Наночастицы оказывают ингибирующий эффект на ростовые процессы растений в дозах 50, 100 и 200 мг/кг почвы.

Изучение всхожести семян тест-культур показало отсутствие различий в дружности прорастания по вариантам опыта. На рисунке 1 представлена фитотоксичность почвы с различными дозами НЧ цинка.

Максимальное подавление прорастания отмечено для *Avena sativa* (65%) и *Raphanus sativus* (80%) в дозе 100 мг/кг, а для *Lepidium sativum* (30%) – в

* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №14-36-00023)

дозе 50 мг/кг. Высокая чувствительность к внесению НЧ цинка отмечена для тест-культур *Avena sativa* и *Raphanus sativus*, т.к. подавление прорастания не более чем на 30% для семян *Lepidium sativum* интерпретируется рядом авторов как отсутствие токсического эффекта [7].

Присутствие НЧ не оказало влияния на количество и длину листьев тест-культур. Но при этом корневая система растений претерпевает значительные изменения. В ходе эксперимента установлена достоверная стимуляция роста корней во всех вариантах опыта, за исключением *Avena sativa*, при дозе 50 мг/кг наночастиц цинка (рис. 1). Величина фитоэффекта указывает на токсичность только в случае угнетения по отношению к контролю, той или иной тест-функции. В нашем случае в большей степени отмечена стимуляция учитываемых тест-функций, при этом максимальная стимуляция роста корневой системы растений для *Avena sativa* и *Lepidium sativum* наблюдается в III варианте опыта (Zn₁₀₀), а для *Raphanus sativus* – в IV варианте (Zn₂₀₀). Сходные результаты получены А. Mukherjee в тесте *Pisum sativum* с загрязнением почвы НЧ ZnO, в которых зафиксировано стимулирование роста корней при отсутствии значимых изменений в морфологии надземных органов [8].

Одним из наиболее важных признаков токсического воздействия на растения является изменение содержания фотосинтетических пигментов. На рисунке 2 представлены результаты изучения воздействия НЧ цинка на содержание пигментов в листьях *Lepidium sativum* и *Raphanus sativus*.

Установлено положительное влияние дозы загрязнителя 50 мг/кг почвы на содержание хлорофилла *a* и *b* в листьях *Lepidium sativum*, которое достоверно увеличилось более чем на 100% для хл. *a* и на 50% для хл. *b*. При дальнейшем увеличении концентрации НЧ в почве содержание хлорофилла *a* и *b* достигает значений, близких к контролю, при дозе 400 мг/кг почвы. Возможно, на увеличение содержания хлорофилла в листьях *Lepidium sativum* повлияло улучшение питательного режима растений, связанного с увеличением концентрации доступных форм цинка как микроэлемента.

Наряду с хлорофиллом *a* и *b* в состав пигмент-белковых комплексов входят каротиноиды. Каротиноиды являются обязательными компонентами фотосинтетического аппарата растений. Они играют роль вспомогательных светособирающих комплексов в той части солнечного спектра, которой слабо поглощает хлорофилл, выполняют фотопротекторную, структурную и защитную функции [4, 9].

Анализируя содержание каротиноидов в листьях *Lepidium sativum* по вариантам, можно сделать вывод о том, что максимальное содержание этой группы пигментов наблюдается при загрязнении почвы НЧ в дозах 100 и 200 мг/кг.

Результаты, полученные в ходе эксперимента, свидетельствуют о преобладании в составе пигментного аппарата *Raphanus sativus* хлорофилла *a* по сравнению с содержанием вспомогательного хлорофилла *b*. Хлорофилл *a* более эффективен в фотохимических реакциях, а роль хлорофилла *b*

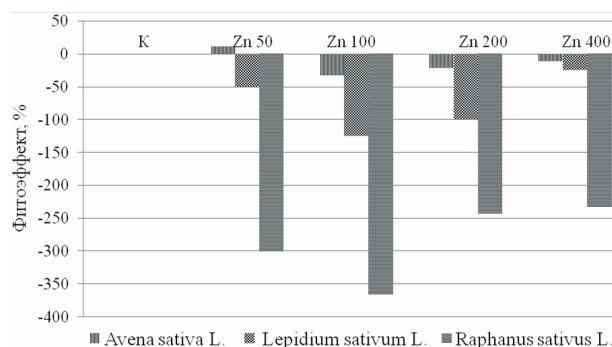
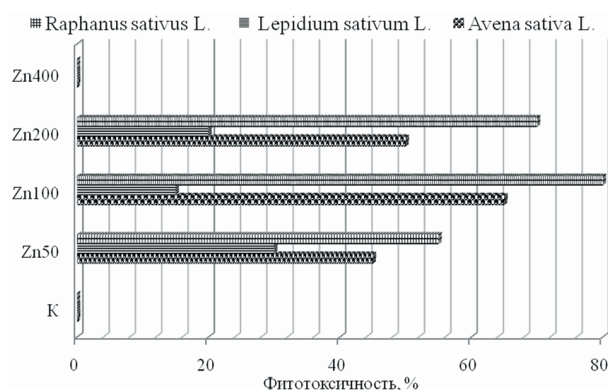


Рис. 1 – Фитотоксичность и фитоэффект наночастиц цинка по отношению к тест-культурам

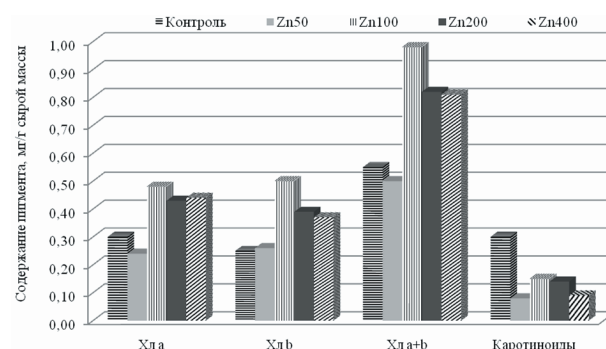
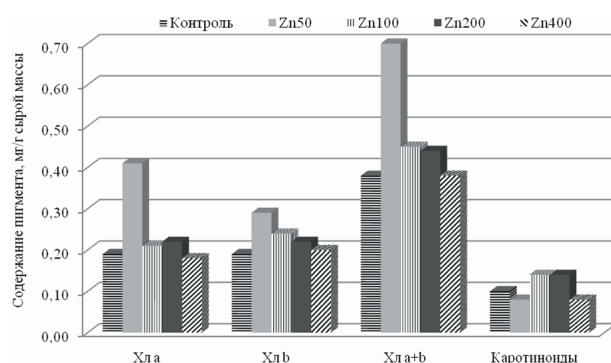


Рис. 2 – Содержание пигментов в листьях *Lepidium sativum* и *Raphanus sativus*

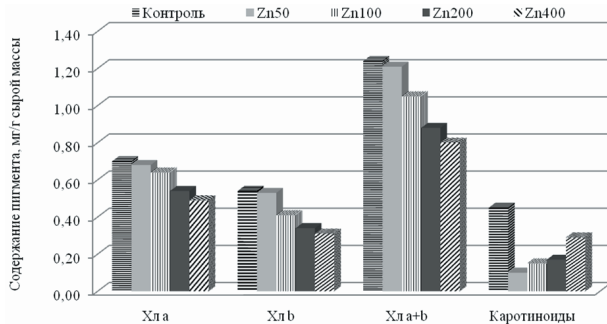


Рис. 3 – Содержание пигментов в листьях *Avena sativa* L.

ограничивается передачей захваченной энергии на хлорофилл *a*. При внесении в почву НЧ наблюдается снижение концентрации хлорофилла *a* только в варианте опыта Zn₅₀. Увеличение концентрации наноматериалов более чем на 100 мг/кг почвы вызывает достоверное увеличение концентрации хлорофилла *a* и *b* (при $P < 0,05$). Проведённое исследование не выявило чувствительности хлорофилла *a* и *b* двудольных растений к внесению в почву НЧ цинка.

В ходе эксперимента отмечалась устойчивая тенденция к снижению содержания каротиноидов, выполняющих как фотосинтетическую, так и антиоксидантную функции в листьях, что свидетельствует о деструктивном влиянии НЧ Zn на защитную роль пигментов в процессе фотосинтеза.

В исследовании нами были использованы семена *Avena sativa*, воздействие НЧ цинка на компоненты пигментного аппарата которого отличалось однозначным деструктивным влиянием (рис. 3).

Повышение содержания в почве НЧ цинка до 400 мг/кг вызывало снижение концентрации хлорофилла *a* на 30% и хлорофилла *b* на 42,6%. Отмечено уменьшение содержания каротиноидов на 77,8% при концентрации НЧ 50 мг/кг. Даль-

нейшее увеличение концентрации НЧ Zn вызывает повышение содержания каротиноидов, что, видимо, связано с мобилизацией компенсаторных механизмов растения в целях сохранения присущего ему уровня ассимиляционного процесса.

Выводы. Результаты исследования свидетельствуют, что наиболее информативными показателями токсичного воздействия наночастиц цинка на тест-растения оказался тест на фитотоксичность по отношению к *Raphanus sativus* L. и содержание хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов в листьях *Avena sativa* L.

Литература

- ГОСТ 33061-2014 Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Наземные растения: тест на всхожесть семян и развитие проростков. М.: Стандартиформ, 2015. 24 с.
- ГОСТ Р ИСО 22030-2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений. М.: Изд-во стандартов, 2009. 20 с.
- Смашевский Н.Д. Практикум по физиологии растений: учебное пособие. Астрахань: Астраханский государственный университет, Издательский дом «Астраханский университет», 2011. 77 с.
- Капитанов А.Б., Пименов А.М. Каротиноиды как антиоксидантные модуляторы клеточного метаболизма // Успехи современной биологии. 1996. Т. 116. С. 169–173.
- Lichtenthaler H.K., Bushmann C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-vis spectroscopy. In Current Protocols in Food Analytical Chemistry; Chanda, V., Ed.; Wiley: New York, NY, USA, 2001. p. F4.3.1-F4.3.8.
- Zhu H., Han J., Xiao J.Q., Jin Y. Uptake, translocation and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants // Journal Environment Monitoring. 2008. № 10. P. 713–717.
- Lalau C.M., Mohedano R.A., Schmidt É.C., Bouzon Z.L., Ouriques L.C., Santos R.W., Costa.C.H, Vicentini D.S., Matias W.G. Toxicological effects of copper oxide nanoparticles on the growth rate, photosynthetic pigment content, and cell morphology of the duckweed *Landoltia punctata* // Protoplasma. 2015. Jan; 252(1): 221-9. doi: 10.1007/s00709-014-0671-7. Epub 2014 Jul 9.
- Mukherjee A., Peralta-Videa J.R., Bandyopadhyay S., Rico C.M., Zhao L., Gardea-Torresdey J.L., Physiologi caleffects of nanoparticulate ZnO in green peas (*Pisum sativum* L.) cultivated in soil. Metallomics. 2014. Jan; 6(1):132-8. doi: 10.1039/c3mt00064h
- Merzlyak M.N., Solovchenko A. E. Photostability of pigments in ripening apple fruit: a possible photoprotective role of carotenoids during plant senescence // Plant Science. 2002. Vol. 163, no. 4. P. 881–888.