

Использование морфометрических и биохимических показателей тест-культур для оценки токсичности наночастиц меди*

*Л.В. Галактионова, к.б.н., ФГБОУ ВО Оренбургский ГУ;
И.З. Губайдуллина, магистрант, ФГБОУ ВО Оренбургский ГУ*

Проблемы влияния техногенных наночастиц (НЧ) на жизнедеятельность живых организмов, в том числе растений, приобретают особую остроту в связи с современным развитием и внедрением нанотехнологий. Именно растительным объектам было отдано предпочтение в опытах по биотестированию наночастиц, поскольку они обладают чрезвычайно высокой чувствительностью к внешним слабоин-

тенсивным факторам, иногда на порядок превышающей чувствительность объектов животного происхождения [10]. Кроме того, они характеризуются малогабаритностью (например, семена), огромным генетическим и морфологическим разнообразием. Таким образом, растения можно рассматривать в качестве тест-организма экотоксичности наночастиц и объекта, на который они действуют положительно, повышая его жизнеспособность. К сожалению, имеющиеся литературные сведения по этому вопросу либо крайне противоречивы,

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

либо трудно сопоставимы как по дозам и размерности наночастиц, так и по видам растений [1].

Целью исследования работы является оценка токсичности наночастиц меди по отношению к морфометрическим показателям и составу пигментного аппарата растений *Lepidium sativum* L., *Avena sativa* и *Raphanus sativus*.

Материал и методы исследования. Подготовка почв, представленных чернозёмом южным, к модельному эксперименту осуществлялась согласно общепринятой методике [2]. Для исследования были выбраны концентрации НЧ в почвах: 50; 100; 200 и 400 мг/кг.

Были поставлены эксперименты для НЧ меди в разных концентрациях, все варианты опыта проводили в трёхкратной повторности. Осуществляли посев семян по схеме:

I – к (контрольный) – почва с внесением семян *Lepidium sativum*, *Avena sativa* и *Raphanus sativus* без НЧ;

II – вариант опыта Cu₅₀ – почва с внесением семян *Lepidium sativum*, *Avena sativa* и *Raphanus sativus*, загрязнённая НЧ в концентрации 50 мг/кг;

III – вариант опыта Cu₁₀₀ – почва с внесением семян *Lepidium sativum*, *Avena sativa* и *Raphanus sativus*, загрязнённая НЧ в концентрации 100 мг/кг;

IV – вариант опыта Cu₂₀₀ – почва с внесением семян *Lepidium sativum*, *Avena sativa* и *Raphanus sativus*, загрязнённая НЧ в концентрации 200 мг/кг;

V – вариант опыта Cu₄₀₀ – почва с внесением семян *Lepidium sativum*, *Avena sativa* и *Raphanus sativus*, загрязнённая НЧ в концентрации 400 мг/кг.

Всхожесть и энергию прорастания определяли в соответствии с ГОСТом 12038-84 [3]. Выделение пигментов и расчёт их содержания проводили по методике Н.Д. Смашевского (2011 г.) [4]. Содержание хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов определяли на вес сырой зелёной массы.

Результаты исследования. Медь (Cu) в растениях входит в состав пластоцианина, участвующего в фотосинтезе, и некоторых других медьсодержащих белков и окислительных ферментов. Токсическое действие меди в повышенных концентрациях проявляется в снижении накопления фитомассы, уменьшении оводнённости тканей и содержания

хлорофилла. Высокие концентрации в форме солей приводят к развитию металлотоксикозов (хлорозы, некрозы, ингибирование роста корней и побегов), вплоть до полной гибели растений [5].

Согласно международному стандарту ISO 11269-2 в качестве тест-растений необходимо выбирать минимум два вида растений, при этом одно должно быть однодольным, а другое двудольным [6]. Поэтому выбранные нами тест-культуры являются представителями классов однодольных и двудольных.

Всхожесть является распространённым показателем при оценке негативного воздействия поллютантов различной природы на почвенно-растительный покров. В ходе эксперимента отмечено наибольшее подавление прорастания семян *Raphanus sativus* (70%) и *Avena sativa* (20%) в дозе НЧ Cu 100 мг/кг, а для *Lepidium sativum* (35%) при дозах 50 и 100 мг/кг (рис. 1). Таким образом, высокая чувствительность к внесению НЧ меди наблюдалась для тест-объекта *Raphanus sativus*.

Исследованием установлена достоверная стимуляция роста корней в вариантах опыта Cu₂₀₀ и Cu₄₀₀, за исключением Cu₅₀ и Cu₁₀₀. Максимальная стимуляция роста корневой системы растений для *Lepidium sativum*, *Avena sativa*, *Raphanus sativus* наблюдалась в варианте опыта Cu₄₀₀. Малые дозы НЧ по отношению к ростовым процессам растений оказывают ингибирующий эффект, а большие – стимулирующий.

Компоненты фотосинтетического аппарата имеют ключевое значение в жизни растения: в стрессовых условиях роста, развития, размножения, перенесения неблагоприятных условий и обеспечения органическим веществом. Физиологические возможности растений определяются как структурной, так и биохимической организацией пигментного аппарата. Известно, что хлорофиллы *a*, *b* и каротиноиды играют ключевую роль в фотосинтетических процессах, а изменение их концентрации и соотношения в пигментном комплексе является индикатором экологического неблагополучия [7].

На рисунке 2 представлены результаты изучения влияния НЧ Cu на содержание пигментов в листьях *Lepidium sativum*. Данные, полученные в

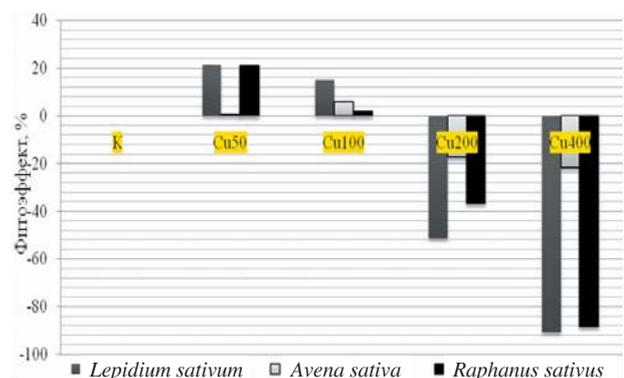
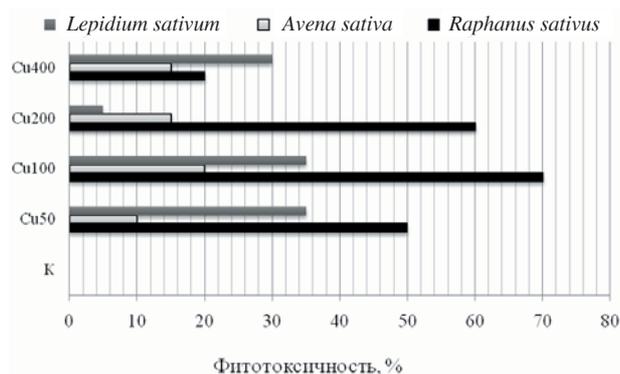


Рис. 1 – Фитотоксичность и фитоэффект НЧ меди по отношению к тест-объектам

ходе эксперимента, свидетельствуют о положительном влиянии дозы загрязнителя 100 мг/кг на содержание хлорофилла *a* и *b* в листьях *Lepidium sativum*, которое увеличилось более чем на 70% для хл. *a* и на 100% – для хл. *b*. При увеличении концентрации НЧ Си до 200 и 400 мг/кг отмечается некоторое снижение содержания хлорофилла *a* и *b*.

Другой группой пигментов, входящих в состав пигмент-белковых комплексов, являются каротиноиды. Роль их заключается в том, что они являются дополнительными пигментами, использующими ту часть спектра, которую не поглощает хлорофилл. Кроме того, они выполняют защитную функцию – предотвращают распад хлорофилла, который может происходить под действием кислорода [8].

При анализе состава пигментного аппарата листьев *Lepidium sativum* обнаружено стимулирование образования каротиноидов при концентрации НЧ меди 50 мг/кг. Что, возможно, связано с компенсацией светособирающей ёмкости зелёных пигментов и необходимой активации защитной роли каротиноидов при обработке растений наночастицами [9]. Дальнейшее увеличение дозы НЧ Си вызывает снижение содержания каротиноидов.

Изучение воздействия НЧ меди на состав пигментного комплекса *Raphanus sativus* показало увеличение содержания хлорофилла *a* и *b* в листьях тест-культуры по сравнению с контрольным вариантом (рис. 3). Максимальное количество хлорофилла *a* и *b* наблюдается в варианте опыта Cu_{100} , оно составило 1,15 мг/г.

Исследование содержания каротиноидов в листьях *Raphanus sativus* выявило, что максимальное содержание этой группы пигментов наблюдалось в контрольном варианте опыта. Возрастание концентрации наночастиц Си вызывает снижение содержания каротиноидов в более чем 3,7 раза.

Максимальное содержание хл. *a* в листьях *Avena sativa* наблюдалось при дозе НЧ Си 50 мг/кг, а для хл. *b* – в контрольном варианте опыта (рис. 4). Увеличение концентрации НЧ Си в почве до 400 мг/кг вызвало снижение доли хлорофилла *a* и *b* в составе пигментного комплекса более чем на 50%. Аналогичная динамика характерна и для каротиноидов, минимальная концентрация которых (0,07 мг/г) наблюдалась при максимальной величине загрязнения.

Вывод. Полученные в ходе эксперимента результаты свидетельствуют о том, что наиболее информативными показателями токсичного воздействия наночастиц меди на растения являются всхожесть семян *Raphanus sativus* L. и состав пигментного комплекса листьев *Avena sativa* L.

Литература

1. Райкова А.П., Паничкин Л.А., Райкова Н.Н. Исследование влияния ультрадисперсных порошков металлов, полученных различными способами, на рост и развитие растений // Нанотехнологии и информационные технологии – технологии XXI века: матер. Междунар. науч.-практич. конф. М., 2006. С. 108–111.

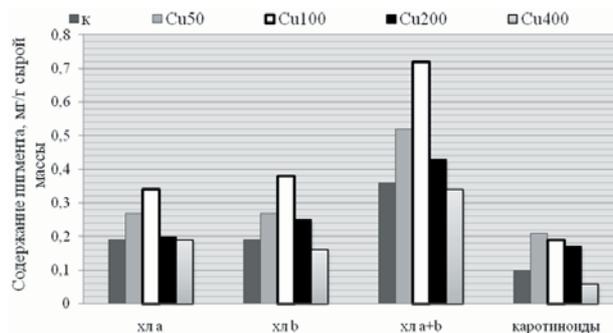


Рис. 2 – Содержание фотосинтетических пигментов в листьях *Lepidium sativum*

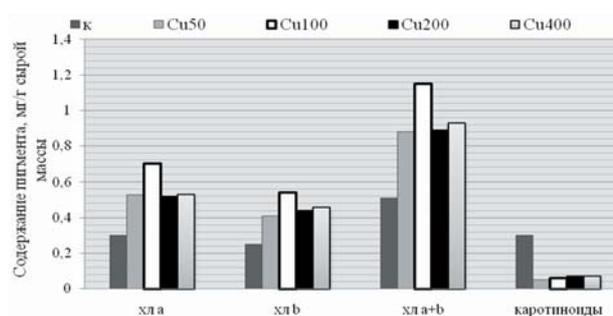


Рис. 3 – Содержание фотосинтетических пигментов в листьях *Raphanus sativus*

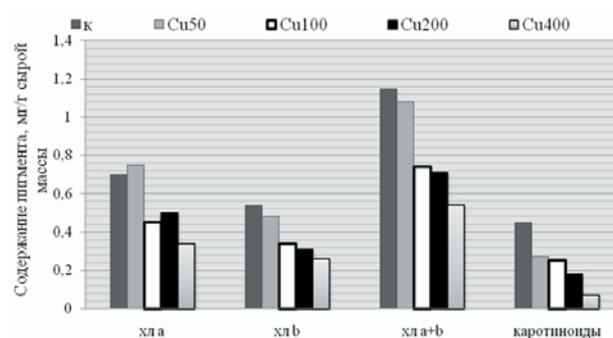


Рис. 4 – Содержание фотосинтетических пигментов в листьях *Avena sativa*

2. ГОСТ Р ИСО 22030-2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений. М.: Изд-во стандартов, 2009. 20 с.
3. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести [Текст]. М.: Изд-во Стандартов, 2004. С. 32–60.
4. Смашевский Н.Д. Практикум по физиологии растений: учебное пособие. Астрахань: Астраханский государственный университет, Издательский дом «Астраханский университет», 2011. 77 с.
5. Школьник М.Я. Микроэлементы в жизни растений. М.: Наука, 1974. 324 с.
6. ISO 11269-2: 2005 Качество почвы. Определение воздействия загрязняющих веществ на флору почвы. Часть 2. Воздействие химикатов на рост высших растений.
7. Зотикова А.П., Бендер О.Г., Рудник Т.И. Экофизиологические реакции листового аппарата кедрового сибирского на изменение климата // Оптика атмосферы и океана. 2006. Т. 19. № 11. С. 969–972.
8. Карнаухов В.Н. Биологические функции каротиноидов. М.: Наука, 1988. 240 с.
9. Ладыгин В.Г., Ширшикова Г.Н. Современные представления о функциональной роли каротиноидов в хлоропластах эукариот // Общая биология. 2006. Т. 67. № 3. С. 163–189.
10. Ling Y., Yatts D. Particle Surface Characteristics May Play an Important Role in Phytotoxicity of Aluminium Nanoparticles. Toxicology Letters. 2005. P. 122–132.