

УДК 632.656:581.1

ДЕЙСТВИЕ НАНОКРЕМНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ И БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В РАСТЕНИЯХ ТОМАТОВ ПРИ ИНВАЗИИ ГАЛЛОВОЙ НЕМАТОДОЙ *Meloidogyne incognita*

© 2020 г. Ж. В. Удалова¹, Г. Э. Фолманис², М. А. Федотов², Л. А. Пельгунова¹, Е. Ю. Крысанов¹,
Ф. К. Хасанов¹, С. В. Зиновьева^{1,*}

Представлено академиком РАН Д. С. Павловым

Поступило 14.07.2020 г.

После доработки 24.07.2020 г.

Принято к публикации 25.07.2020 г.

Представлены новые данные о действии коллоидного нанокремния на содержание биогенных элементов и фотосинтетических пигментов в инфицированных галловой нематодой *Meloidogyne incognita* растениях томатов. При внекорневой обработке растений препаратами водного коллоидного раствора нанокремния в концентрациях 0.5 и 1.0 мкг/мл выявлено возрастание содержания фотосинтетических пигментов и ряда биогенных элементов (P, Mg, K, S, Fe) в листьях томатов, свидетельствующее об улучшении физиологического состояния инвазированных растений. Показано стимулирующее влияние нанокремния на развитие и рост растений и ингибирующее – на поражаемость растений нематодами и морфофизиологические параметры паразита.

Ключевые слова: нанокремний, галловая нематода, томаты, биогенные элементы, фотосинтетические пигменты, морфофизиологические показатели паразита

DOI: 10.31857/S2686738920060244

Паразитические нематоды р. *Meloidogyne* (галловые нематоды) – опасные паразиты корневой системы, поражающие практически все виды высших растений, ущерб от которых исчисляется миллионами долларов [1]. Эффективные способы борьбы с этими паразитами отсутствуют. В последнее время успешно развивается экологически безопасное направление в защите растений, основанное на индукции их устойчивости [2]. Индуцированную устойчивость (ИУ) вызывают факторы биотической и абиотической природы, способные активизировать сложную интегрированную систему защитных механизмов и тем самым максимально реализовать естественный иммунный потенциал растений. Научный и практический интерес с этой точки зрения представляет изучение роли эссенциальных (жизненно необ-

ходимых) микроэлементов в реализации ИУ. Одним из таких элементов является кремний. Многочисленные исследования показали его значение в жизнедеятельности растений и регуляции абиотических и биотических стрессов, вызванных различными фитопатогенами, в том числе паразитическими нематодами [3]. Показано, что защитная роль кремния при биогенных стрессах связана с укреплением стенки эпидермальных клеток, обеспечивающих механический барьер. Присутствие кремния затрудняет атаку патогенов и вредителей, а также индуцирует биохимические защитные реакции растений [4]. О действии наноразмерного кремния (нанокремния) на растения в стрессовых условиях известно еще очень немного. Показано положительное влияние нанокремния при действии ряда абиогенных факторов (обезвоживание, соленость, тяжелые металлы) [5]. Изучения роли нанокремния как индуктора устойчивости растений в условиях биогенного стресса, вызванного фитопатогенами, до настоящего времени не проводилось. Антистрессовая активность кремния побудила нас к исследованию способности его наноразмерной формы выступать в качестве абиогенного индуктора устойчивости растений к паразитическим нематодам.

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт металлургии и материаловедения Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: zinovievas@mail.ru

Таблица 1. Влияние водных коллоидных растворов нанокремния на развитие инвазированных растений и морфофизиологические параметры галловой нематоды *M. incognita*

Вид обработки	Длина стебля, см	Вес стебля, г	Число галлов/г корня	Размер галлов, мм	Размер самки, мм	
					Длина тела	Ширина тела
Вода (контроль)	33.6 ± 4.8	9.5 ± 2.1	225 ± 38	7.6 ± 0.6	0.521 ± 0.122	0.322 ± 0.112
Нанокремний, 0.5 мкг/мл	36.8 ± 4.0	9.8 ± 1.9	152 ± 27*	3.9 ± 0.4*	0.480 ± 0.111*	0.149 ± 0.042*
Нанокремний, 1.0 мкг/мл	38.8 ± 5.1*	11.1 ± 3.5*	163 ± 32*	3.2 ± 0.3*	0.510 ± 0.114	0.105 ± 0.038*

* – достоверные различия относительно контроля, при $p \leq 0.05$; $n = 10$ для растений; $n = 50$ для галлов и нематод.

Исследования проводили на модельной системе: томаты *Lycopersicon esculentum* – галловая нематода *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White, 1919) Chitwood, 1949. В работе были использованы томаты гибрида Гамаюн (ИУ 30%).

Для работы был использован препарат водного коллоидного раствора нанокремния, полученного методом лазерной абляции [6]. В качестве мишени был применен монокристаллический кремний. Средний размер частиц составлял 65.3 ± 1.6 нм, рН раствора 4.92, дзета-потенциал равен – 12.3 мВ, исходная концентрация – 10 мкг/мл. Работу проводили с двумя концентрациями препарата – 0.5 и 1.0 мкг/мл, эффективность действия которых на растения была показана ранее [6].

Поверхностно стерилизованные семена томатов замачивали в 2 мл препарата коллоидного раствора нанокремния течение 2 ч перед высадкой в грунт. Через 3 недели после прорастания семян часть растений инфицировали нематодой (3000 личинок на растение) и опрыскивали растворами нанокремния в тех же концентрациях, которыми обрабатывали семена (10 мл/растение). Контрольные семена и растения обрабатывали водой. Опыты проводили в 6-кратной повторности. Растительные пробы для анализов отбирали на 14-е сутки после инвазии и обработки растений препаратом кремния. Морфофизиологические параметры растений и нематод анализировали через 40 дней после инвазии. Устойчивость растений оценивали по степени поражения корней, количеству галлов/г корня и морфофизиологическим параметрам нематод (число половозрелых самок, их размеры).

Растения, пораженные галловыми нематодами, проявляют симптомы минерального голодания (хлороз листьев) и недостатка воды [7]. Поэтому, для оценки действия наноразмерного кремния на растения при инвазии паразитическими нематодами в настоящей работе были исследованы такие показатели как содержание фотосинтетических пигментов в листьях (важный и чувствительный показатель фотосинтеза, отражающими физиологическое состояния растений при действии стресса) и содержание ряда биоген-

ных минеральных элементов в листьях и корнях растений томатов.

Содержание хлорофиллов и каротиноидов оценивали по спектрам поглощения этанольных экстрактов из листьев опытных растений [8].

Для определения элементного состава образцов применяли метод рентгено-флуоресцентного анализа (РФА). Качественный анализ образцов проводился на приборе M4 TORNADO, количественный – S2 PicoFox (оба прибора производства Bruker, Германия). Корни, стебли и листья здоровых и инвазированных нематодой томатов анализировали по стандартной методике ISO/TS 18705:2015 [9].

Статистический анализ был выполнен с использованием программного обеспечения “STATISTICA 12.0” (StatSoft Inc., USA). Для определения статистической значимости различия использовался t -критерий Стьюдента. Статистически значимыми считались различия при $p < 0.05$.

Результаты исследований показали, что обработка растений водными растворами нанокремния оказала влияние на устойчивость растений. При анализе морфофизиологического состояния нематод, а также зараженности растений и их состояния в период проведения эксперимента было выявлено стимулирующее влияние нанокремния на развитие и рост растений и ингибирующее на поражаемость растений и развитие паразита (табл. 1). Длина и вес стебля растений при обработке водными растворами нанокремния в концентрациях 0.5 и 1.0 мкг/мл, превосходили контрольные, что являлось показателем положительного действия препарата на инфицированные растения. Зараженность растений по сравнению с контролем в этих случаях была снижена на 28 и 32% соответственно. Меньший размер галлов и самок, а также отсутствие яиц в их отеках свидетельствует о задержке развития нематод в корнях обработанных растений.

Фотосинтетический аппарат в первую очередь подвергается воздействию стрессовых факторов. Особый интерес представляет изменение содержания фотосинтетических пигментов – хлорофилла *a* (*Chl a*), хлорофилла *b* (*Chl b*) и каротиноидов (*Car*). Результаты проведенных исследований

Таблица 2. Содержание хлорофиллов и каротиноидов в листьях томатов при действии наноразмерного кремния и инвазии *M. incognita*

Группа растений	<i>Chl a</i> (мг/г)	<i>Cl b</i> (мг/г)	<i>Car (c)</i> (мг/г)	<i>Cl (a + b)</i> (мг/г)
Здоровые	1.41 ± 0.26	0.78 ± 0.29	0.54 ± 0.02	2.19 ± 0.21
Инвазированные	1.33 ± 0.34*	0.64 ± 0.18*	0.43 ± 0.06*	1.97 ± 0.51*
Нанокремний, 0.5 мкг/мл, здоровые	1.49 ± 0.32	0.76 ± 0.14	0.58 ± 0.12	2.25 ± 0.38
Нанокремний, 0.5 мкг/мл, инвазированные	1.62 ± 0.27*	0.69 ± 0.21	0.62 ± 0.09*	2.31 ± 0.39*
Нанокремний, 1.0 мкг/мл, здоровые	1.44 ± 0.30	0.79 ± 0.16	0.30 ± 0.04*	2.23 ± 0.35
Нанокремний, 1.0 мкг/мл, инвазированные	1.69 ± 0.21	0.56 ± 0.09	0.50 ± 0.13	2.25 ± 0.49

* – достоверные различия относительно здорового контроля, при $p \leq 0.05$; $n = 6$.

показали, что содержание фотосинтетических пигментов в инвазированных растениях было ниже, в сравнении со здоровыми – *Chl a* на 10%, *Cl b* на 18%, *Car* на 20% (табл. 2).

Обработка приводила к незначительному повышению общего количества хлорофиллов в листьях, но содержание каротиноидов при концентрации 1.0 мкг/мл снизилось на 44%. Обработка зараженных растений нанокремнием в концентрации 0.5 мкг/мл приводила к увеличению содержания фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) даже по сравнению со здоровыми растениями, что свидетельствовало о нормализации физиологического состояния растений, нарушенного инвазией нематодами. Концентрация 1.0 мкг/мл оказалась менее эффективной – количество хлорофиллов и каротиноидов в листьях хотя и было выше, чем в листьях необработанных инвазированных растений, однако было ниже, чем при обработке растений препаратом в концентрации 0.5 мкг/мл.

В регуляции процессов фотосинтеза и продуктивности растений большое значение имеют элементы минерального питания. Проведенные исследования показали, что экзогенная обработка растений нанокремнием существенно отразилась на содержании исследованных биогенных элементов (табл. 3). Так, на 14-й день после обработки в листьях неинвазированных (здоровых) растений существенно повысилось содержание Mg, Cl, P, Fe, а также P и K в корнях растений. В то же время содержание Ca и S в листьях и Cl в корнях заметно снизилось по сравнению с контрольными растениями. Инвазия растений нематодами значительно снизила содержание в листьях биогенных элементов, играющих важную роль в фотосинтезе и обменных процессах растений: P, Mg, K, S, Fe и Zn [10]. Повышение концентрации S, K и Ca в корнях растений при инвазии, возможно, объясняется их оттоком из листьев и связано с жизнедеятельностью корнеобитающих нематод. При обработке нанокремнием в листьях инвазированных растений содержание P, Mg, K, S и Fe значительно возрастало по сравнению с необра-

ботанными и даже было больше, чем в здоровых растениях (табл. 3). В корнях, местах локализации паразита, содержание P и K было больше, чем в здоровых растениях, тогда, как содержание Ca, Mg, Fe практически не отличалось от содержания в здоровых корнях. Содержание S, Cl и Zn было ниже, чем в здоровых растениях, что, возможно, связано с особенностями метаболизма растений, обработанных нанокремнием. Томаты классифицируют как растения, не накапливающие кремний [11].

Проведенные нами исследования не выявили присутствия кремния в листьях, стеблях и корнях необработанных растений. При внекорневой обработке препаратом нанокремния он был обнаружен во всех органах растений, при этом распределение этого элемента по органам в инвазированных и здоровых растениях происходило поразному (табл. 4). В здоровых растениях наибольшее количество кремния было обнаружено в листьях, а в инвазированных – в корнях. Изменение концентрации минеральных элементов в корнях обработанных препаратом растений, возможно, связано с присутствием в них кремния, поскольку известно, что он оказывает существенное влияние на поглощение и использование растениями других элементов минерального питания [12]. Аккумуляция кремния в корнях томатов, в местах их паразитирования и, соответственно, физического и секреторного воздействия на организм хозяина, вероятно указывает на участие этого элемента в индукции защитных реакций растений. Содержание кремния в данном случае более чем в 3 раза превышало содержание его в корнях здоровых растений. Ранее, на растениях риса, инвазированных галловой нематодой *Meloidogyne graminicola*, было показано, что уровень проявления защитных реакций, опосредованных кремнием, связан с увеличением его содержания в корнях растений [13].

Таким образом, проведенные исследования показали, что обработка растений томатов нанокремнием стимулирует ростовые процессы, снижает зараженность корневой системы нематода-

Таблица 3. Изменения концентраций биогенных элементов в тканях растений томатов, при инвазии и обработке нанокремнием (0.5 мкг/мл) (% от содержания в здоровых необработанных кремнием растениях)

	Mg	P	S	Cl	K	Ca	Mn	Fe	Zn	Cu
Здоровые растения, обработанные нанокремнием										
Листья	+23*	+103*	-43*	+23*	+36*	-34*	0	+27*	+4	-8
Корни	+10	+20*	+37*	-45*	+24*	+57*	+40*	-8	+6	-16*
Инвазированные растения										
Листья	-14*	-9	-10	+169*	-4	-58*	-21*	-23*	-35*	-22 *
Корни	+5	-52*	+125*	24*	+40*	+58*	-34*	-11*	-17*	-9
Инвазированные растения, обработанные нанокремнием										
Листья	+9	+58*	+49*	+6	+62*	+3	+4	+17*	0	+3
Корни	+5	+20*	-12*	-35*	+31*	+6	+40*	+1	-12*	-4

* указывает на существенное отличие от концентраций элемента в здоровых, необработанных растениях при $p \leq 0.05$; $n = 3$.

Таблица 4. Распределение кремния по органам здоровых и инвазированных растений (мг/кг воздушно-сухой массы)

Концентрация Si	Здоровые растения		Инвазированные растения	
	0.5 мкг/мл	1.0 мкг/мл	0.5 мкг/мл	1.0 мкг/мл
Листья	2.01 ± 0.12*	2.42 ± 0.34	2.24 ± 0.14	3.19 ± 0.26
Стебли	1.07 ± 0.19	1.44 ± 0.21	1.39 ± 0.02	1.19 ± 0.20
Корни	1.52 ± 0.16	0.84 ± 0.09	4.26 ± 0.52	3.55 ± 0.37

*мг/кг воздушно-сухой массы; $n = 3$.

ми и оказывает ингибирующее влияние на морфофизиологические показатели нематод. Отмечено при этом возрастание содержания фотосинтетических пигментов и ряда биогенных элементов в инвазированных растениях, свидетельствует об улучшении их физиологического состояния. Этот факт, а также аккумуляция кремния в зоне паразитирования, позволяют рассматривать водный раствор коллоидного нанокремния в качестве абиогенного индуктора, активизирующего системы стрессорного ответа на инвазию, ограничивающие развитие паразита. Детали механизма этого индуцирования еще предстоит выяснить. В настоящее время показано, что кремний стимулирует устойчивость растений к бактериям, грибам, вирусам, насекомым и нематодам. Опосредованные кремнием механизмы устойчивости включают в себя синтез низкомолекулярных соединений, обладающих биоцидными свойствами (фитоалексины, фенолы), генерацию активных форм кислорода, активацию сигнальной системы растений (салициловой и жасминовой кислот, а также этилена) и индукцию защитных белков [14]. Свойства наночастиц кремния позволяют им непосредственно проникать в клетки растений и взаимодействовать с белками и другими биомолекулами. Такое пря-

мое действие нанокремния может способствовать быстрой передаче клеточных сигналов и позволяет ему проявить большую биологическую эффективность в отношении фитопатогенов по сравнению с полноразмерным Si [15]. В настоящее время активно исследуются возможности применения нанокремния в сельском хозяйстве для производства удобрений, пестицидов и гербицидов, создания генетически модифицированных растений и ряда других технологий, направленных на решение сельскохозяйственных проблем, связанных с повышением продуктивности растений [5].

Полученные нами данные, позволяют рассматривать водный раствор коллоидного нанокремния в качестве индуктора устойчивости растений к биогенному стрессу, вызванному паразитическими нематодами. Возможно, это не единственная функция исследованного препарата, и спектр его применения может быть расширен.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнялась в рамках государственного задания № 0109-2018-0066.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Elling A. A.* Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species // *Phytopathology*. 2013. V. 103. № 11. P. 1092–1102. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-13-0019-RVW>
2. *Udalova Zh.V., Zinovieva S.V.* Systemic induced plant resistance as a control strategy to parasites alternative to pesticides // *Ecol. Eng. Environ. Protection*. 2015. № 2. P. 59–66. <http://ecoleng.org/Contents2.2015.html#9>
3. *Frew A., Weston L. A., Reynolds O. L., Gurr G.M.* The role of silicon in plant biology: a paradigm shift in research approach // *Ann. Bot.* 2018. V. 121. № 7. P. 1265–1273. <https://doi.org/10.1093/aob/mcy009>
4. *Sakr N.* Silicon-enhanced resistance of plants to biotic stresses. Review article // *Acta Phytopathol. et Entomol. Hung.* 2018. V. 53. № 2. P. 125–141. <https://doi.org/10.1556/038.53.2018.005>
5. *Rastogi A., Tripathi D.K., Yadav S.K., Chauhan D.K., Živčák, M., Ghorbanpour M., Elsheery N.I., Brestic M.* Application of silicon nanoparticles in agriculture // *Biotech* 2019. V. 9. 90. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1626-7>
6. *Roldugin V.I., Fedotov M.A., Folmanis G.E., Kovalenko L.V., Tananaev I.G.* Formation of aqueous colloidal solutions of selenium and silicon by laser ablation // *Dokl. Phys. Chem.* 2015. T. 463. № 1. P. 161–164. <https://doi.org/10.1134/S0012501615070064>
7. *Bartlem D.G., Jones M.G., Hammes U.Z.* Vascularization and nutrient delivery at root-knot nematode feeding sites in host roots // *J. Exp. Bot.* 2014. V. 65 № 7. P. 1789–1798. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert415>
8. *Lichtenthaler H.K.* Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // *Methods in Enzymology*. 1987. V. 148. P. 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
9. *ISO/TS 18705:2015.* Surface chemical analysis – Use of Total Reflection X-ray Fluorescence spectroscopy in biological and environmental analysis.
10. *Mengel K., Kirkby E.A.* Principles of Plant Nutrition. 5th ed. Kluwer Academic Publishers; Dordrecht, The Netherlands: 2001. P. 849. ISBN 978-1-4020-0008-9
11. *Nikolic M., Nikolic N., Liang Y. C., Kirkby E.A., Romheld V.* Germanium-68 as an adequate tracer for silicon transport in plants. Characterization of silicon uptake in different crop species // *Plant Physiol.* 2007. V. 143. № 1. P. 495–503. <https://doi.org/10.1104/pp.106.090845>
12. *Greger M., Ladberg T., Vaculík M.* Silicon influences soil availability and accumulation of mineral nutrients in various plant species // *Plants (Basel)*. 2018. V. 19. № 7 (2). P. 41. <https://doi.org/10.3390/plants7020041>
13. *Zhan L.P., Peng D.L., Wang X.L., Kong L. A., Peng H., Liu S. M., Liu Y., Huang W. K.* Priming effect of root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* in rice // *BMC Plant Biol.* 2018. V. 18. № 1. P. 50. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1266-9>
14. *Wang M., Gao L., Dong S., Sun Y., Shen Q., Guo S.* Role of Silicon on Plant-Pathogen Interactions // *Front Plant Sci.* 2017. V. 8. 701. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00701>
15. *Saptarshi S.R., Duschl A., Lopata A.L.* Interaction of nanoparticles with proteins: relation to bio-reactivity of the nanoparticle // *J. Nanobiotechnol.* 2013. V. 11. № 1. P. 26. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-11-26>

EFFECTS OF SILICON NANOPARTICLES ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND BIOGENIC ELEMENTS IN TOMATO PLANTS INFECTED WITH ROOT-KNOT NEMATODE MELOIDOGYNE INCOGNITA

Zh. V. Udalova^a, G. E. Folmanis^b, M. A. Fedotov^b, L. A. Pelgunova^a,
E. Yu. Krysanov^a, F. K. Khasanov^a, and S. V. Zinovieva^{a,#}

^a *Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

^b *Baikov Institute of Metallurgy and Materials Science, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

[#] *e-mail: zinovievas@mail.ru*

Presented by academician of the RAS D. S. Pavlov

New data are presented on the effect of colloidal silicon nanoparticles on the content of nutrients and photosynthetic pigments in tomato plants invaded by root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Foliar treatment of plants with colloidal solutions of silicon nanoparticles at concentrations of 0.5 and 1.0 µg/ml revealed an increase in the content of photosynthetic pigments and a number of biogenic elements (P, Mg, K, S, Fe) in tomato leaves, indicating an improvement in the physiological state of the invaded plants. The stimulating effect of nanosilicon on the development and growth of plants and the inhibiting effect on the susceptibility of plants by nematodes and the morpho-physiological parameters of the parasite is shown.

Keywords: silicon nanoparticles, root-knot nematode, mineral nutrients, photosynthetic pigments, morpho-physiological parameters of the parasite