

## ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА НА РОСТ СЕЯНЦЕВ НЕКОТОРЫХ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД

© 2023 г. З. Н. Рябинина<sup>1</sup>, Р. Г. Калякина<sup>2,\*</sup>, М. В. Рябухина<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН, Оренбург, Россия

<sup>2</sup>Оренбургский государственный аграрный университет, Оренбург, Россия

<sup>3</sup>МВД РФ Экспертно-криминалистический центр, Москва, Россия

\*E-mail: kalyakina\_railya@mail.ru

Поступила в редакцию 05.12.2022 г.

После доработки 07.02.2023 г.

Принята к публикации 14.02.2023 г.

Изучено влияние наночастиц (НЧ) Fe на развитие сеянцев сосны обыкновенной, дуба черешчатого и березы повислой на территории Бузулукского лесничества Державинского участкового лесничества Оренбургской области. Установлено, что морфобиологическая реакция сеянцев на действие НЧ Fe имеет видовую специфичность. Для сеянцев сосны и березы концентрация НЧ Fe 100 ммоль/л была токсичной, 25 ммоль/л – оказывала стимулирующее действие на рост сеянцев сосны и угнетающее на рост сеянцев березы, 6.25 и 1.56 ммоль/л – стимулирующее действие на рост сеянцев сосны и березы. При этом морфобиологические реакции сеянцев сосны и березы схожи. Максимальное стимулирующее действие НЧ Fe на сеянцы сосны и березы наблюдалось при концентрации 6.25 ммоль/л. Длина главного корня у сеянцев сосны увеличилась на 23.1%, березы – на 18.7%, количество придаточных корней – на 1.5 и 2.8% соответственно, длина придаточных корней – на 14.4 и 12.1%. Сеянцы дуба в эксперименте показали толерантность ко всем концентрациям (различия между опытом и контролем были не достоверны). Результаты исследования могут быть применены при выращивании посадочного сосны обыкновенной и березы повислой, в том числе при разработке технологий микрোকлонального размножения, а также при проведении предпосевной подготовки семян, разработке программ защиты растений и применения стимуляторов роста.

DOI: 10.56304/S199272232303010X

### ВВЕДЕНИЕ

Наночастицы (НЧ) за последние несколько десятилетий получили широкое распространение благодаря своим уникальным электронным, оптическим, механическим, магнитным и химическим свойствам. Это создает новые возможности для их использования в качестве новых средств подготовки семян, защиты растений, стимуляторов роста. Использование НЧ является приоритетным направлением в области растениеводства, так как позволяет обеспечить фитосанитарную защиту и улучшение роста сеянцев древесных растений. Исследование действия НЧ должно сопровождаться исследованием дозозависимого эффекта и установления пороговых концентраций эффективного стимулирующего и угнетающего действия. Кроме того, остаются малоизученными вопросы воздействия НЧ на окружающую среду и их миграции через трофические цепи.

Источником поступления НЧ в окружающую среду является не только антропогенная деятельность, но и ряд естественных процессов. НЧ можно обнаружить в вулканическом пепле, на месте

лесных пожаров, в виде аэрозолей морской соли, в качестве оксидов железа или других металлов в почвах, реках и океанах [1–3].

Действие НЧ на рост растений может быть прямым или косвенным, связанным с микробными ассоциатами растений, в том числе микрофлорой [1, 3]. Их действие может быть как отрицательным, так и положительным или нейтральным. Действие НЧ Fe связано с их способностью аккумулироваться в клетках растений и взаимодействовать с внутриклеточными белками и полисахаридами клеточной стенки. НЧ Fe способствуют образованию свободных радикалов или активных форм кислорода, служат “системой доставки” ионов, индуцируя их образование. Кроме того, они способны формировать комплексы с нуклеиновыми кислотами и тем самым оказывать влияние на синтез веществ в клетке [1–6].

Большое количество исследований показывает, что результат зависит от свойств и концентрации НЧ, а также от видовой принадлежности обрабатываемого растения [2]. Например, экспериментально показано, что наноструктурированный диоксид

кремния может служить стимулятором роста семян *Larix olgensis* [7]. НЧ металлов способны стимулировать прорастание семян, рост растений, повышение массы их вегетативных органов, плодов и семян, а также увеличение их количества и химического состава [8–11]. Наночормы Ag подавляют рост *Pinus muricata*, *Pinus sylvestris* [12]. НЧ способны оказывать токсичное действие и подавлять прорастание семян, рост побегов и корней [8, 9, 13, 14]. НЧ Cu не оказывали значительного влияния на параметры роста семян *Taxodium distichum* [15]. Влияние НЧ зависит от их физических характеристик, химической природы и видовых особенностей растений. В связи с этим актуально изучение влияния разных концентраций НЧ на рост и развитие растений.

Исследование основывается на том, что видовая принадлежность и сроки развития семян древесных растений определяют формирование морфобиологических реакций на действие различных концентраций наночормов тяжелых металлов, в частности Fe. Что приводит к формированию дозозависимого эффекта и установления границ стимулирующего и подавляющего действия.

С целью соблюдения чистоты эксперимента семенной материал отбирали в естественных популяциях сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), березы повислой (*Betula pendula* Roth.) с оптимальными и идентичными условиями произрастания от модельных деревьев.

## МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись семена сосны обыкновенной, березы повислой, дуба черешчатого, полученные из семян, собранных с модельных деревьев на пробных площадях, расположенных на территории Бузулукского лесничества Державинского участкового лесничества Оренбургской области. Пробные площади закладывали в пределах естественных массивов изучаемых древесных пород. Согласно физико-географическому районированию пробные площади расположены в пределах лесостепной зоны Восточно-Европейской равнины и относятся к Общесыртовскому возвышенно-грядовому округу. Площади сбора семенного материала схожи по экологическим, почвенным, гидротермическим условиям произрастания (ГТК = 0.7) [16, 17].

Культивирование семян проводили с использованием НЧ Fe ( $80 \pm 15$  нм). НЧ были получены в институте энергетических проблем химической физики РАН (Москва) при помощи метода высокотемпературной конденсации на установке МиГен по технологии М.Я. Гена и А.В. Миллера, размер НЧ  $100 \pm 2$  нм.

На первом этапе исследования навески исследуемых веществ (100 ммоль/л каждого вещества) разводили дистиллированной водой (10 мл) и диспергировали путем обработки ультразвуком частотой 35 кГц в источнике ванного типа “Сапфир ТТЦ” 30 мин, после чего готовили четырехкратные разведения.

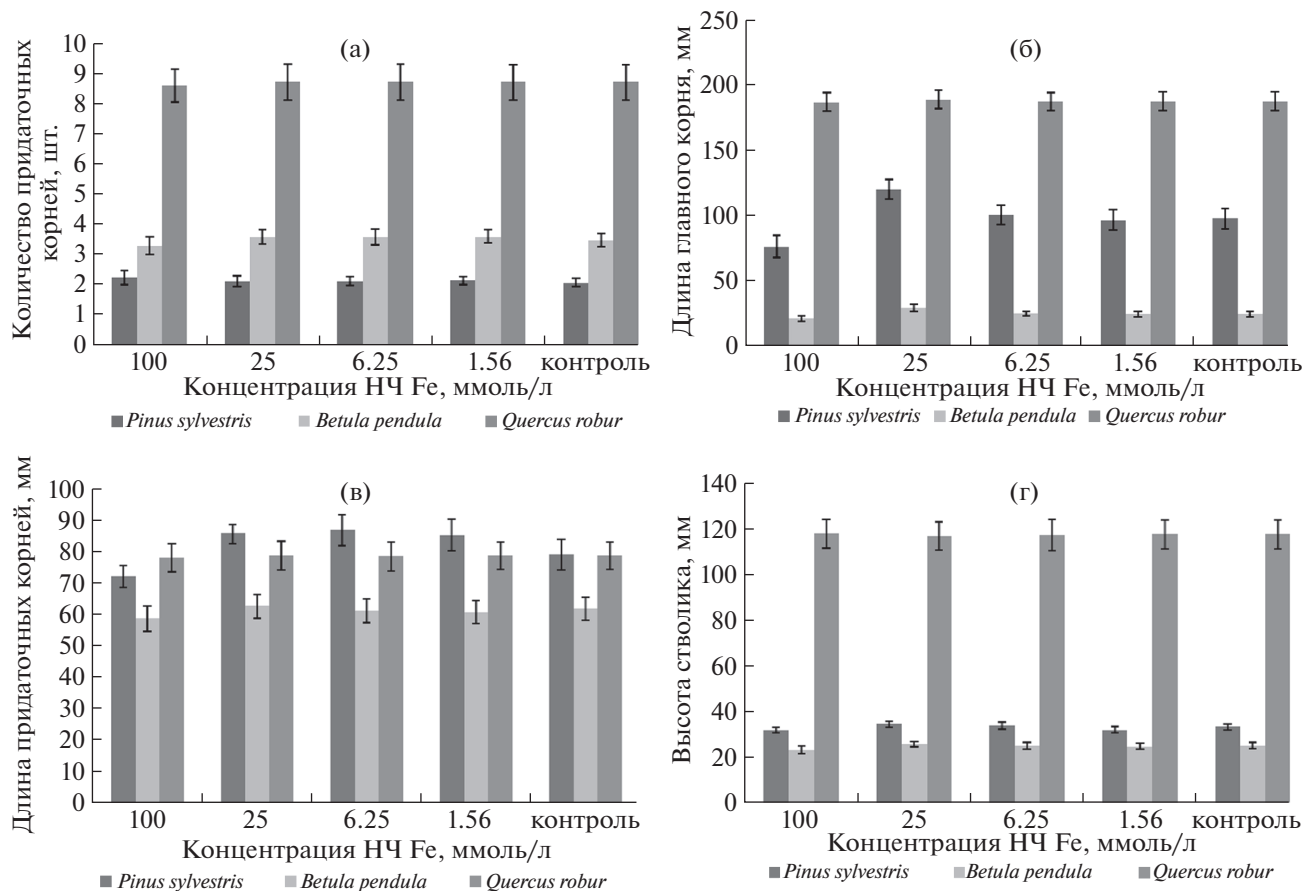
В качестве субстрата для проращивания использовали кварцевый песок, предварительно обработанный. Биотестирование проводили в соответствии с ГОСТ 15150–69 в лабораторных условиях [18]. Эксперимент проводили по следующей схеме. Семена стратифицировали в помещении в ящиках с песком при температуре  $0–5^{\circ}\text{C}$  в течение 45 сут, затем помещали в контейнеры с предварительно подготовленным субстратом, заглубляли и проводили орошение заранее приготовленными суспензиями или растворами. Орошение контрольных образцов проводили дистиллированной водой. После чего контейнеры помещали в термостат с оптимальным режимом проращивания на срок 14 дней, при необходимости проводили увлажнение субстрата исследуемыми растворами. Диагностическими признаками служили всхожесть семян, морфометрические показатели семян [19, 20].

Статистическую обработку результатов выполняли в программе Microsoft Excel 2007. Из каждой выборки исключали значения параметров, выходящие за рамки  $\pm 3\sigma$ . Итоговые значения являются средней арифметической величиной  $\pm$  основная ошибка средней арифметической величины. Оценку существенности различий средних величин проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ роста семян сосны обыкновенной и березы повислой в среде с разным содержанием НЧ Fe выявил значимые изменения морфометрических показателей по сравнению с контролем (рис. 1).

Присутствие в среде НЧ Fe в концентрации 100 ммоль/л угнетало всхожесть семян сосны обыкновенной и березы повислой на 28.7 и 30.5% соответственно и практически не влияло на всхожесть дуба черешчатого. Отметим, что дуб показал относительную индифферентность к действию высоких концентраций НЧ Fe. Содержание НЧ Fe в более низких концентрациях стимулировало всхожесть семян сосны обыкновенной и березы повислой. Так, при концентрации 25 ммоль/л всхожесть увеличилась по сравнению с контролем на 8.2 и 7.6% соответственно. Концентрация НЧ Fe 6.25 ммоль/л также стимулировала всхожесть семян сосны обыкновенной и березы повислой, увеличивая этот показатель



**Рис. 1.** Морфометрические показатели сеянцев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), березы повислой (*Betula pendula* Roth.), дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) при культивировании в среде, содержащей НЧ Fe: а – длина главного корня, мм; б – количество придаточных корней, шт.; в – длина придаточных корней, мм; г – высота стволика, мм.

на 17.3 и 17.6% соответственно. Концентрация 1.56 ммоль/л существенного влияния на всхожесть семян не оказала. Схожесть концентраций НЧ Fe свидетельствует о токсическом влиянии высоких концентраций и фунгицидном действии более низких концентраций. На следующих этапах роста сеянцев влияние НЧ Fe было связано с их включением в метаболизм. Максимальная опытная концентрация НЧ Fe снижала длину побега и корня сосны обыкновенной и березы повислой на 21.7 и 14.2% соответственно. При этом количество придаточных корней у сеянцев сосны обыкновенной в опытной группе по сравнению с контрольной увеличилось на 7.7%, у березы повислой снизилось на 5.1%. Морфометрические показатели сеянцев дуба черешчатого в опытных группах отличались от таковых в контрольной группе не более чем на 1%.

Концентрация НЧ Fe 25 ммоль/л оказывала стимулирующее действие на рост сеянцев сосны обыкновенной и березы повислой. Установлено увеличение длины главного корня у сеянцев сосны обыкновенной на 23.1%, у березы повислой –

на 18.7%. Количество придаточных корней в опытных группах по сравнению с контролем увеличилось на 1.4 и 2.8% соответственно. Длина придаточных корней также увеличилась на 14.4 и 12.1%. Морфометрические показатели сеянцев дуба черешчатого в опытной, так же как при концентрации 100 ммоль/л, отличались от таковых в контрольной группе незначительно.

Снижение концентрации НЧ Fe до 6.25 ммоль/л ослабило стимулирующее действие на рост сеянцев сосны обыкновенной и березы повислой. Длина главного корня по сравнению с предыдущей опытной группой снизилась на 16.4 и 15.4% соответственно. Высота стволика также уменьшилась по сравнению с предыдущей опытной группой на 2.3 и 3.1%. При этом по сравнению с контрольной группой сеянцы сосны обыкновенной и березы повислой отличались по длине главного корня на 3.0 и 4.0% соответственно, по количеству придаточных корней – 1.9 и 2.9% соответственно, по длине придаточных – на 16.0 и 9.6%. Морфометрические показатели сеянцев дуба черешчатого в опытной, так же как при

предыдущих концентрациях, отличались от таковых в контрольной группе незначительно.

Морфобиологическая реакция сеянцев сосны обыкновенной и березы повислой при культивировании в присутствии НЧ Fe в концентрации 1.56 ммоль/л была однотипной. Наблюдалось незначительное снижение длины главного корня на 0.9 и 0.4% соответственно. Количество и длина придаточных корней, напротив, увеличивались. Так, у сеянцев сосны обыкновенной эти показатели увеличились на 2.9 и 14.0% соответственно, у сеянцев березы повислой – на 2.9 и 8.8%. Существенных изменений морфометрических показателей сеянцев дуба при данной концентрации не отмечено.

### ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлена видовая специфичность реакции сеянцев изучаемых древесных пород на действие НЧ Fe. Причина различных морфобиологических реакций исследуемых пород древесных растений на действие НЧ Fe обусловлена различием физиологических процессов, включая защитные и адаптивные реакции. Различные виды растений имеют различия молекулярных и физиологических механизмов поглощения и транспорта железа в ответ на толерантность морфофизиологических признаков в условиях токсичности и дефицита Fe в почве [21]. Угнетающее воздействие тяжелых металлов для некоторых растений может быть связано с ограниченным поглощением питательных элементов, снижением метаболической активности [22]. Кроме того, токсичное воздействие НЧ Fe обусловлено тем, что в ионной форме Fe может участвовать в образовании токсичных активных форм кислорода и поэтому быть вредным для растений [23].

Сеянцы дуба черешчатого индифферентны к действию даже высоких концентраций НЧ Fe. Аналогичные результаты были установлены при изучении действия НЧ Ag и Cu [20–22].

Сосна обыкновенная и береза повислая, напротив, показали большую чувствительность к действию НЧ Fe. Концентрация НЧ 100 ммоль/л была токсичной для сеянцев данных пород. В современной литературе одним из возможных механизмов токсического действия НЧ рассматривается генерация активных форм кислорода, приводящих к окислительному стрессу [24]. В диапазоне концентраций НЧ Fe 6.25–25 ммоль/л у сеянцев сосны обыкновенной и березы повислой отмечалось увеличение придаточных корней, что может рассматриваться в качестве компенсаторной реакции на подавление роста главного корня. Стимулирующее действие НЧ Fe на рост и развитие сеянцев сосны обыкновенной и березы повислой:

корневая система становилась более разветвленной, с большим количеством боковых корешков, что согласуется с данными работы [25], где изучалось действие наносеребра и НЧ оксида меди на развитие корневой системы микроклонов березы. Действие данного вида НЧ не ограничивается “протравливающим” эффектом, возможно, изменяет химический состав поверхности корня и, как следствие, влияет на усвоение питательных веществ [3, 25]. НЧ Fe, действуя как микроэлемент, входящий в состав ферментов, так же как НЧ CuO, приводят к индукции ризогенеза [26, 27].

Железо участвует в биохимических реакциях и процессах в виде небелкового компонента ряда ферментов, в переносе протонов и электронов по электрон-транспортным цепям фотосинтеза и дыхания, оказывает влияние на формирование структуры и функционирование хлоропластов, а также синтез хлорофилла [25].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали возможность использования НЧ Fe в технологическом процессе выращивания сосны обыкновенной и березы повислой на стадии предпосевной обработки семян и выращивания в закрытом грунте. Отмечено, что под воздействием НЧ Fe происходит активизация ризогенеза данных пород. При этом необходим подбор оптимальных концентраций НЧ Fe. Рекомендуются дозы 6.25–25 ммоль/л.

Не выявлено положительного эффекта применения НЧ Fe при выращивании дуба черешчатого. Корневая система микрорастений березы повислой формировалась более разветвленной, с большим количеством боковых корешков.

Полученные результаты могут быть полезны в биотехнологической практике при использовании НЧ в ходе выращивания посадочного материала.

Работа выполнена в рамках плановых научно-исследовательских работ по темам № 0526-2022-0014.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ruffini Castiglione M., Cremonini R.* // *Caryologia*. 2009. V. 62. P. 161.
2. *Klaine S., Alvarez P.J.J., Batley G.E. et al.* // *Environ. Toxicol. Chem.* 2008. V. 27. P. 1825.
3. *Masarovica E., Kral'ova K.* // *Ecol. Chem. Eng. S.* 2013. V. 20. P. 9.
4. *Belava V.N., Panyuta O.O., Yakovleva G.M. et al.* // *Nanoscale Res. Lett.* 2017. V. 12 (1). P. 250.
5. *Gavriush I.A., Lebedev S.V., Galaktionova L.V. et al.* // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2019. V. 341 (1). P. 012168.
6. *Kalyakina R.G., Maiski R.A., Ryabukhina M.V.* // *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 2019. V. 687 (6). P. 066044.

7. *Lin B., Diao S., Li C. et al.* // J. Forestry Res. 2004. V. 15. P. 138.
8. *Dietz K.-J., Herth S.* // Trends Plant Sci. 2011. V. 16. P. 582.
9. *Rastogi A., Zivcak M., Sytar O. et al.* // Front. Chem. 2017. V. 5. P. 78.
10. *Nel A., Xia T., Madler L., Li N.* // Science. 2006. V. 311. P. 622.
11. *Yang J., Cao W., Rui Y.* // J. Plant Interact. 2017. V. 12. P. 158.
12. *Куликова Н.А.* // Почвоведение. 2021. № 3. С. 304.
13. *Bayramzadeh V., Ghadiri M., Davoodi M.H.* // Sains Malaysiana. 2019. V. 48 (5). P. 937.
14. *Ryabinina Z.N., Bastaeva G.T., Lebedev S.V. et al.* // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 2020. V. 579 (1). P. 012095.
15. *Lee W., An Y., Yoon H. et al.* // Environ. Toxicol. Chem. 2008. V. 27. P. 1915.
16. *Чибилёв А.А.* // Степи Северной Евразии: материалы VII междунар. симпози. Оренбург: Димур, 2015. С. 916.
17. *Климентьев А.И.* // Вопросы степеведения. 2005. № 4. С. 83
18. ГОСТ 15150-69 Машины, приборы и другие технические изделия. Исполнения для различных климатических районов. Категории, условия эксплуатации, хранения и транспортирования в части воздействия климатических факторов внешней среды.
19. Методические указания 1.2.2635-10. Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 122 с.
20. Указания по лесному семеноводству в Российской Федерации: утв. Рослесхозом 11.01.2000. М.: ВНИИЦлесресурс, 198 с.
21. *Wu L.B., Ueda Y., Lai S.K. et al.* // Plant Cell. Environ. 2016. V. 40. P. 570.
22. *Rizwan M., Ali S., Ali B. et al.* // Chemosphere. 2019. V. 214. P. 269.
23. *Feng Y., Kreslavski V.D., Shmarev A.N. et al.* // Plants. 2022. V. 11. P. 1894.
24. *Азарова А.Б., Лебедев В.Г., Шестибратов К.А.* Способ микрклонального размножения алычи *in vitro*. Патент РФ № 0002652953. 03.05.2018.
25. *Евлаков П.М., Федорова О.А., Гродецкая Т.А. и др.* // Российские нанотехнологии. 2020. Т. 15. № 4. С. 505.
26. *Aleksandrowicz-Trzcńska M., Olchowik J., Studnicki M.* // Symbiosis. 2019. V. 79 (1). P. 89.
27. *Aleksandrowicz-Trzcńska M., Bederska-Blaszczyk M., Szaniawski A. et al.* // Forests. 2019. V. 10 (3). P. 269.