

ВЛИЯНИЕ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ И ХИТОЗАНА НА РОСТ РАСТЕНИЙ ТОМАТА И ПЕРЦА В АСЕПТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

© 2024 г. Н. Н. Глущенко^{1,*}, О. А. Богословская¹, И. П. Ольховская¹, Г. С. Нечитайло²

¹Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

*E-mail: nnglu@mail.ru

Поступила в редакцию 18.12.2023 г.

После доработки 15.04.2024 г.

Принята к публикации 15.04.2024 г.

Представлены результаты сравнительных исследований воздействия наночастиц (NPs) железа, цинка, меди и их композиций, а также хитозана в составе питательных сред на прорастание семян и морфофизиологические показатели растений томата и перца. Установлено, что на питательных средах с хитозаном и NPs металлов вместо солей этих элементов всхожесть семян перца увеличивается в среднем на 3–7%, семян томата – в 1.4–2.8 раза по сравнению со всхожестью семян на стандартной среде Мурасиге–Скуга (контроль) в зависимости от концентрации, элемента и сочетания с хитозаном. Введение NPs металлов и хитозана в питательные среды для культивирования растений томата и перца оказывает незначительное влияние на изменение длины корня, но способствует усилению его активности, например, для NPs Fe в концентрации 3 мг/л в 2.24 раза ($p \leq 0.05$), в комбинации с хитозаном в 2.44 ($p \leq 0.05$) раза по сравнению с контролем. Посадочный материал, подготовленный на питательных средах с NPs металлов и хитозаном в асептических условиях, высаженный в грунт, позволяет повышать урожайность томатов на 10–15%, перцев в 2 раза.

DOI: 10.56304/S1992722323601234

ВВЕДЕНИЕ

Использование наночастиц (NPs) в технологии растениеводства для стимулирования роста и развития растений, повышения урожайности и качества сельскохозяйственной продукции основано на доказательстве того, что NPs могут выполнять роль пролонгированного источника микроэлементов [1–5].

Известно, что физико-химические свойства NPs, включая фазовый состав, поверхностный заряд, размер и форму, являются ключевыми факторами, влияющими на эффективность действия NPs, биосовместимость, токсичность, поглощение и другие свойства [6]. Наиболее мобильной физико-химической характеристикой NPs следует рассматривать состояние их поверхности [6, 7]. Уникальность NPs заключается в возможности модифицировать поверхность NPs различными факторами. Например, при синтезе NPs Cu пассивация проводилась в контролируемых условиях кислородом, парами воды, воздухом [8]. При этом токсикологические свойства, антимикробная активность в отношении грамотрицательных и грамположительных микробов, а также ранозаживляющие свойства NPs с модифицированной поверхностью отличались друг от

друга, демонстрируя корреляционные связи с фазовым составом и размером частиц [8].

В настоящее время для решения биомедицинских задач исследуются возможности различных методов и способов модификации поверхности NPs с использованием ковалентного и нековалентного связывания веществ различной природы на поверхности NPs. Это приводит к улучшению биосовместимости, эффективности поглощения NPs, что позволяет расширить потенциал использования NPs в таких областях, как биоимиджинг, биосенсорика и доставка лекарств [6–9]. Молекулы, используемые для модификации поверхности NPs, включают в себя низко- и высокомолекулярные белки, антитела, аптамеры и олигосахариды [10, 11]. Кроме того, модификация поверхности NPs специфическими нацеливающими лигандами часто необходима для снижения токсичности (что широко применяется для NPs серебра) и повышения их стабильности в биологических жидкостях [12, 13].

В области растениеводства поверхностная модификация NPs может придать повышенную способность клеткам к интернализации, улучшить биосовместимость и способность связывать микроэлементы, необходимые для эффективной внутриклеточной доставки. Среди различных

стабилизаторов, используемых для предотвращения агрегации NPs, полисахариды представляют собой привлекательный выбор для получения функциональных материалов. Учитывая эти факты, в проведенных исследованиях модификацию поверхности NPs металлов жизненно необходимых элементов проводили высокомолекулярным хитозаном.

Цель настоящей работы — изучение сравнительного действия NPs железа, цинка, меди и их композиции в присутствии хитозана на рост и урожайность растений перца и томата, выращенных на питательной среде Мурасиге—Скуга в асептических условиях.

МЕТОДЫ

Металлические NPs получены методом высокотемпературной конденсации на установке Мигген-3 [14]. Используемые NPs металлов представляют собой монокристаллические структуры круглой правильной формы, покрытые полупрозрачной оксидной пленкой. Средний диаметр NPs Fe составляет 27.0 ± 0.51 нм, NPs Zn — 54.0 ± 2.8 нм, NPs Cu — 79.0 ± 1.24 нм. Фазовый состав NPs следующий: у NPs Fe кристаллическая металлическая фаза составляет 53.6%, фаза железа оксида Fe_3O_4 — 46.4%, толщина оксидной пленки — 3.5 нм. Наночастицы меди и цинка состоят из кристаллической металлической фазы с толщиной оксидной пленки 1.0–0.5 нм [15] (рис. 1).

В питательную среду Мурасиге—Скуга [16] вводили суспензии индивидуальных или композиции NPs металлов вместо солей металлов в разных концентрациях (мг/л): NPs Fe — 10.0, 3.0, 0.6, 0.3, 0.06, NPs Zn — 3.0, 1.0, 0.4, 0.08, 0.016, NPs Cu — 0.04, 0.004, 0.0008, 0.00016 и хитозан “Тяньши” (Китай) в концентрации 100 мг/л.

Модификацию NPs проводили хитозаном при диспергировании порошков на диспергаторе “Scientz JY 92 - II” (Китай) в течение 30 с при мощности 99% при охлаждении. Процесс диспергирования повторяли трижды. Готовую суспензию NPs с хитозаном добавляли в 1 л стерильной, охлажденной до 45°C питательной среды Мурасиге—Скуга при перемешивании на магнитной мешалке в течение 2 мин.

Объектом исследования являлись растения перца (*Capsicum annuum* sub sp), сорт *LJ-king*, и томата (*Lycopersicon esculentum* L.), сорт *Venice*. В подготовленные стерильные банки с питательной средой раскладывали семена растений по 3 шт. на банку. Для каждого варианта среды использовали по 10 банок с тремя семенами в каждой. Банки с семенами помещали на стеллажи в стерильной комнате с контролируемым постоянным режимом: температура — 22–25°C, влаж-

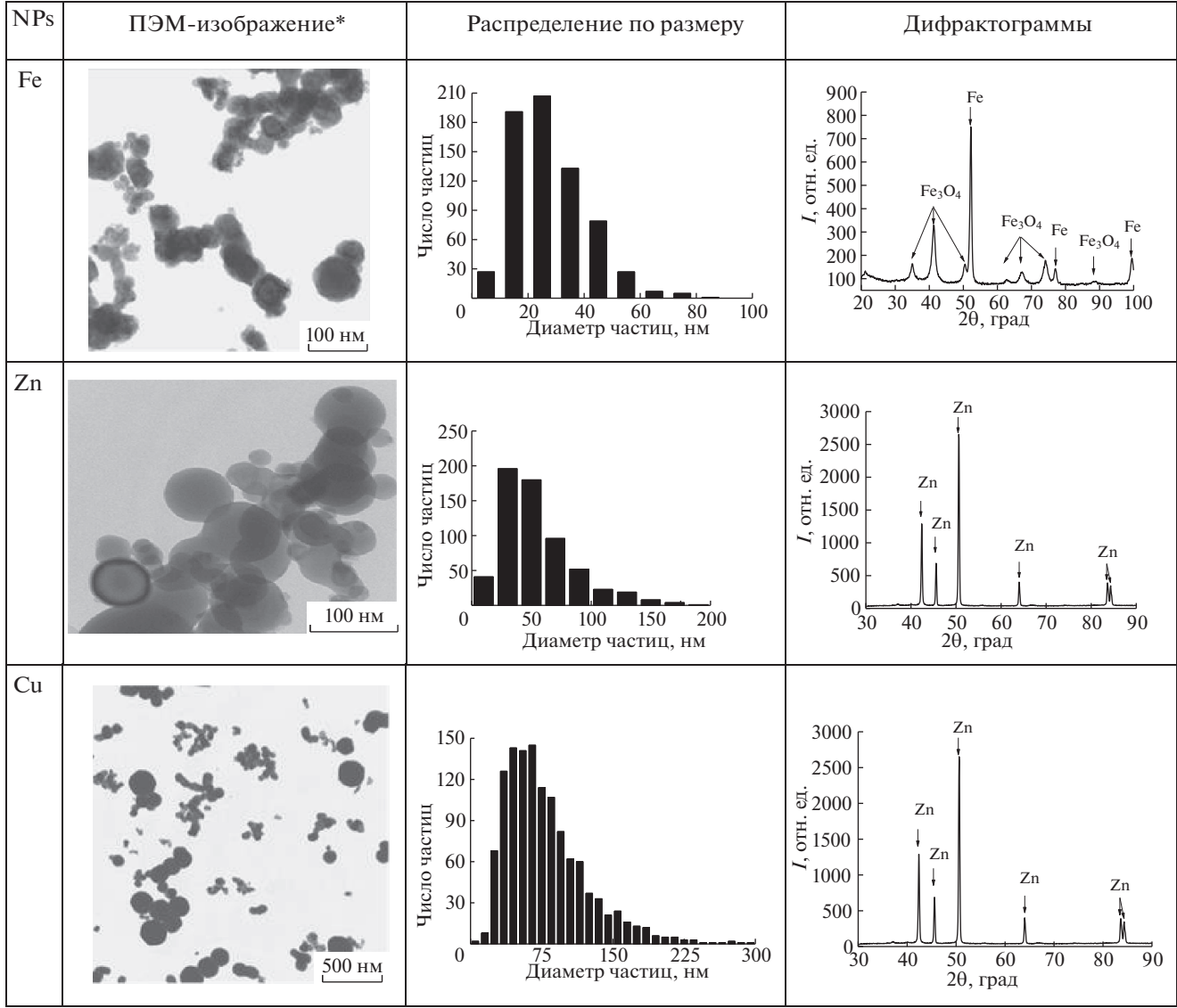
ность — 36%, освещенность — 3500–3000 Lux 12/12 ч в сутки. Показатель всхожести семян томата и перца оценивали через 15 дней культивирования. Через 40 сут роста и развития растений оценивали следующие показатели: длина корня, всасывающую активность корня по восстановлению трифенилтетразолия хлорида [17] (табл. 1). Через 40 сут культивирования растений в асептических условиях посадочный материал высаживали в грунт. Дизайн опыта представлен на рис. 2.

Результаты экспериментов, полученные в десяти повторях, обрабатывали статистически с помощью компьютерных программ Microsoft Excel, Statistica 6.0. Достоверность (p) полученных результатов оценивали по U -критерию Манна—Уитни [18]. Различия между двумя выборками считали статистически значимыми при $0.001 \leq p \leq 0.10$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

С учетом того что всхожесть семян является одним из наиболее важных показателей, определяющих будущий урожай, проведена оценка влияния NPs в разных концентрациях и соотношениях в композициях на изменение всхожести семян томата и перца. Если принять прорастание семян в контроле (стандартная среда Мурасиге—Скуга, в которой металлы введены в виде сульфатов) за 100%, то при введении NPs Fe в питательную среду вместо железа сульфата прорастание семян перца увеличивается на 3% и на 7% в присутствии хитозана (рис. 3). Воздействие NPs металлов на всхожесть семян томата было более впечатляющим по сравнению с этим показателем для семян перца. Наибольший эффект увеличения всхожести семян томата (277.8% по сравнению с контролем) наблюдали на среде, содержащей NPs Cu в концентрации 0.0008 мг/л с хитозаном и NPs Cu в концентрации 0.004 мг/л без хитозана. Рисунок 4 демонстрирует разницу ответов семян томата и перца по показателю всхожести семян на средах, содержащих NPs Fe и NPs Cu без и с хитозаном в идентичных концентрациях.

Введение в питательные среды NPs металлов и хитозана отразилось на морфометрических и физиологических показателях растений: содержание хлорофилла, длины и активности корней, длины ростка и зеленой массы растений. В табл. 1 приведены данные по изменению длины и активности корней растения томата. Полученные данные показали, что введение NPs металлов в разных концентрациях и соотношениях, а также хитозана в питательные среды не привело к достоверным изменениям длины корня растения томата. В то же время активность корня увеличивалась в пределах от 2.1% при включении в среду композиции NPs Fe + NPs Zn + NPs Cu: 10.0 + 3.0 + 0.04 мг/л и хитозана до 236.8% ($p \leq 0.05$) при вве-



* Изображение наночастиц получено с помощью просвечивающего электронного микроскопа.

Рис. 1. Физико-химические характеристики NPs металлов.

дении в среду NPs Cu в концентрации 0.004 мг/л и хитозана. Уменьшение активности корня наблюдали при введении в среду NPs Zn в концентрации 0.2 мг/л и хитозана до 87.5% и композиции NPs Fe + NPs Zn + NPs Cu: 10.0 + 3.0 + 0.04 мг/л до 80.5%. В целом растения, выращенные в асептических условиях на питательных средах с NPs металлов вместо солей и хитозаном, представляют собой оздоровленный посадочный материал с хорошо развитой корневой системой и улучшенными морфофизиологическими показателями. Посадочный материал через 40 дней выращивания в асептических условиях после полного истощения агаризованной питательной среды высаживали в грунт. На рис. 3 представлена диаграмма изменения урожайности, количества и массы плодов

растения перца при использовании рассады, выращенной на питательной среде с NPs Zn и хитозаном. Видно, что присутствие хитозана сохраняет показатели урожайности перца, рассада которого выращена на питательной среде с NPs Zn в концентрации 0.04 мг/л: увеличение урожайности на 27.1%, количество плодов – на 26.3% по сравнению с контролем, посадочный материал которого был выращен на стандартной среде Мурасиге–Скуга. При выращивании рассады на питательной среде с NPs Zn в концентрации 0.02 мг/л присутствие хитозана приводило к увеличению урожайности в 2 раза, количества плодов – на 98.1% и массы плодов – на 9.1% по сравнению с контролем. Введение хитозана при культивировании растения перца на питательной среде с

Таблица 1. Длина и активность корней* растения томата, выращенного на питательной среде Мурасиге—Скуга с NPs Fe, NPs Zn, NPs Cu и их композиций вместо сульфатов этих элементов без и в присутствии хитозана

Концентрация, мг/л			Хитозан	Длина корня		Активность корня	
Fe	Zn	Cu		см	Опыт/контроль, %	мг г ⁻¹ ч ⁻¹	Опыт/контроль, %
0	0	0	—	13.2 ± 2.2	100	0.478 ± 0.125	100
10.0	0	0	—	13.8 ± 1.7	104.4	0.841 ± 0.113	176.0
						$p \leq 0.05$	
3.0	0	0	—	8.7 ± 0.6	66.0	1.074 ± 0.160	224.7
						$p \leq 0.05$	
0.6	0	0	—	12.3 ± 2.2	93.4	1.015 ± 0.275	212.3
						$p \leq 0.1$	
10.0			+	8.5 ± 0.7	64.2	0.872 ± 0.092	182.5
						$p \leq 0.05$	
3.0			+	9.8 ± 1.3	73.9	1.168 ± 0.091	244.3
						$p \leq 0.05$	
0.6			+	12.9 ± 1.7	98.1	0.715 ± 0.118	149.5
0	3.0	0	—	13.2 ± 0.8	100.2	0.680 ± 0.096	142.3
0	1.0	0	—	15.9 ± 2.2	120.1	0.551 ± 0.139	115.3
0	0.2	0	—	13.8 ± 1.2	104.6	0.600 ± 0.086	125.5
	3.0		+	13.7 ± 1.1	103.5	0.621 ± 0.067	130.0
	1.0		+	12.9 ± 1.2	97.5	0.627 ± 0.182	131.1
	0.2		+	14.4 ± 1.3	108.9	0.418 ± 0.117	87.5
0	0	0.04	—	13.9 ± 1.7	105.2	0.533 ± 0.159	111.6
0	0	0.004	—	10.0 ± 0.6	75.8	0.526 ± 0.116	110.1
0	0	0.0008	—	12.8 ± 2.4	97.2	0.789 ± 0.243	165.0
		0.04	+	11.0 ± 1.3	83.3	0.736 ± 0.049	153.9
		0.004	+	12.2 ± 0.8	92.6	1.132 ± 0.123	236.8
						$p \leq 0.05$	
		0.0008	+	10.8 ± 1.4	81.4	0.720 ± 0.043	150.6
10.0	3.0	0.04	—	10.6 ± 1.5	80.2	0.385 ± 0.055	80.5
3.0	1.0	0.004	—	11.4 ± 2.0	86.2	0.708 ± 0.083	148.0
0.6	0.2	0.0008	—	15.8 ± 2.3	119.7	0.685 ± 0.059	143.3
10.0	3.0	0.04	+	12.3 ± 1.9	93.4	0.488 ± 0.127	102.1
3.0	1.0	0.004	+	12.1 ± 1.1	91.3	0.917 ± 0.155	191.9
						$p \leq 0.1$	
0.6	0.2	0.0008	+	10.9 ± 1.1	82.3	1.075 ± 0.264	224.8
						$p \leq 0.1$	

*Средние значения (*M*) и стандартные ошибки среднего ($\pm$ SEM). Достоверность отличий при $p \leq 0.05$.

NPs Zn в концентрации 1.0 мг/л способствует увеличению урожайности до 154.6%, количества плодов до 155.2% по сравнению с контролем. Описанная тенденция сохраняется для других NPs металлов при введении хитозана.

ОБСУЖДЕНИЕ

Модификация поверхности NPs является универсальным инструментом для улучшения их биосовместимости, снижения токсичности и эффективности поглощения NPs биосистемами [6,

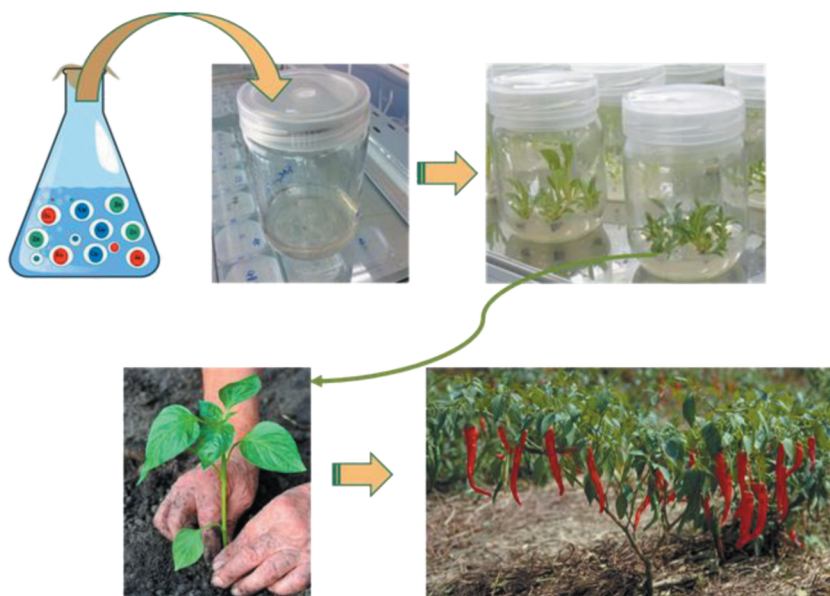


Рис. 2. Дизайн эксперимента.

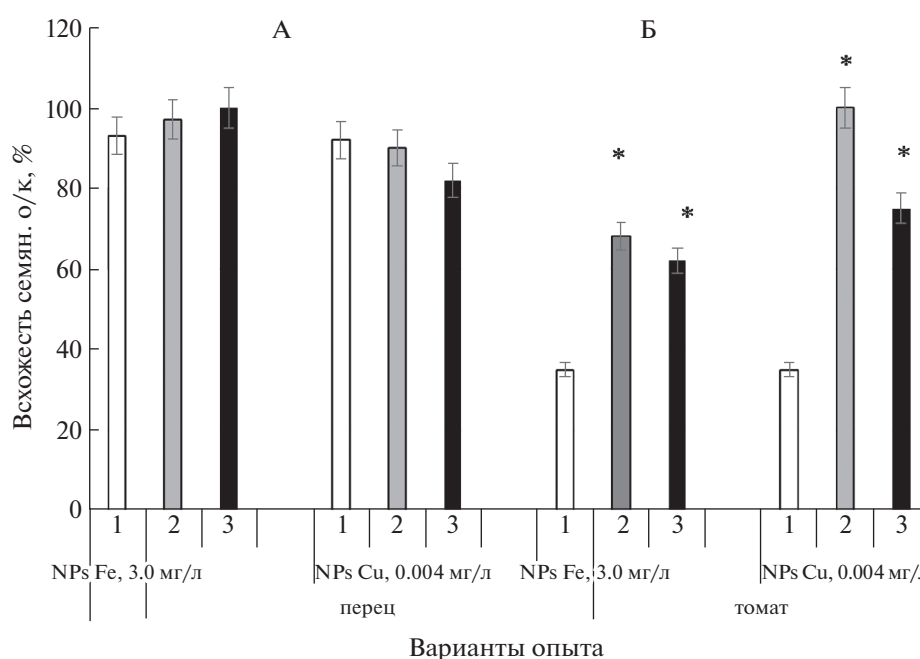


Рис. 3. Изменение показателей всхожести семян перца (А) и томата (Б) при культивировании на питательных средах с NPs Fe в концентрации 3.0 мг/л и NPs Cu в концентрации 0.04 мг/л в присутствии хитозана и без него. В качестве контроля взята всхожесть семян на стандартной питательной среде Мурасиге—Скуга с солями металлов, равная 100%; 1 — контроль, 2 — культивирование с NPs без хитозана, 3 — культивирование с NPs и с хитозаном. * достоверность $p \leq 0.05$

7, 9]. Известно, что среди различных стабилизаторов, используемых для предотвращения агрегации NPs, полисахариды, в частности хитозан, являются перспективными для получения функциональных материалов на основе металлических NPs. Хитозан, полученный путем частичного деацетилирования хитина из панциря ракообраз-

ных, является биосовместимым, биоразлагаемым и нетоксичным полимером, состоящим из β -(1-4)-связанного D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина. Большой интерес к этому полимеру также обусловлен большим количеством функциональных групп и его превосходной пленкообразующей способностью. Благодаря присут-

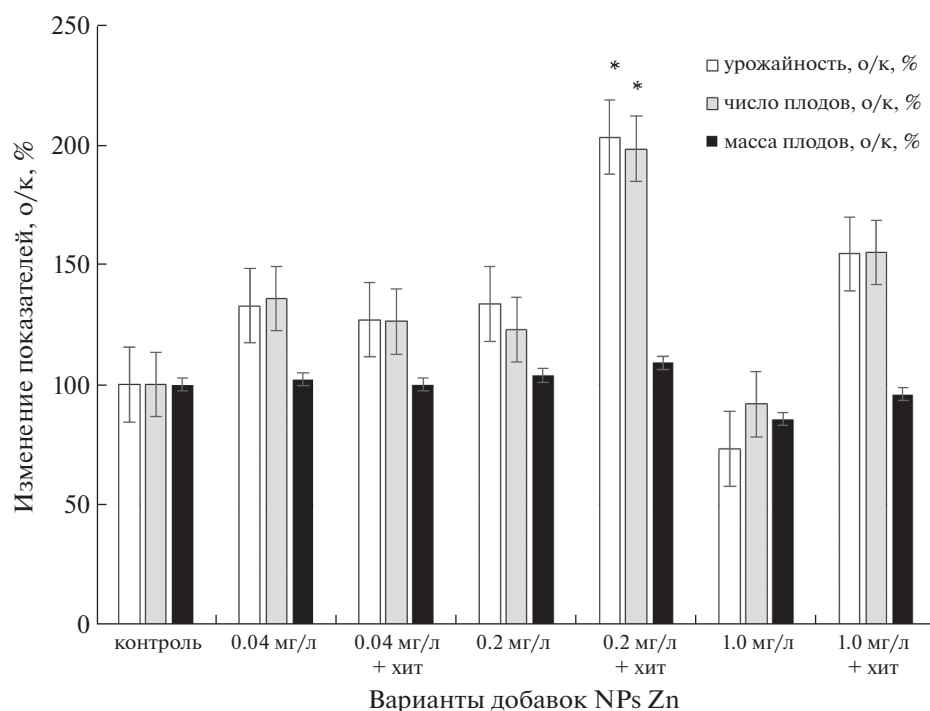


Рис. 4. Изменение показателей урожайности, количества и массы плодов растения перца при использовании посадочного материала, выращенного в асептических условиях на питательной среде с NPs цинка и хитозаном. * — достоверность $p \leq 0.05$.

ствию amino- и гидроксильных групп хитозан может участвовать как в восстановительных, так и в стабилизационных процессах. В последнее время, например, все большее внимание уделяется получению NPs Au с хитозаном [19].

В проведенных исследованиях NPs Fe, NPs Zn, NPs Cu были модифицированы хитозаном на стадии их подготовки для введения в питательную среду. В процессе выращивания растений томата и перца на питательных средах с NPs металлов установлено, что морфофизиологические показатели растений превосходят показатели растений, выращенных на стандартной питательной среде с металлами в виде сульфатов. Присутствие хитозана способствовало изменению ответной реакции растений в зависимости от измеряемого показателя, концентрации NPs в питательной среде и вида растений. При этом активность корня, определенная по восстановлению трифенилтетразолия хлорида, увеличивалась в большинстве случаев и, как правило, усиливалась в присутствии хитозана. Это дает основание полагать, что модификация поверхности NPs хитозаном позволяет повышать биосовместимость металлических NPs и эффективность их поглощения корнями растений.

Известно, что NPs обладают антимикробной активностью, что было показано на примере представителей грамотрицательных и грамполо-

жительных микроорганизмов [5, 9, 15]. Введение NPs металлов в стерильную питательную среду обеспечивает дополнительную защиту растений от отрицательного действия микробов в период интенсивного роста.

Увеличение доступа жизненно необходимых элементов железа, цинка, меди отражается на росте и развитии растений, о чем свидетельствуют улучшенные морфофизиологические характеристики растений. В результате посадочный материал, полученный в асептических условиях на средах с NPs металлов и хитозаном, позволяет улучшить структуру урожая, а именно повысить урожайность, количество и массу плодов томатов и перцев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты подтверждают перспективность использования NPs металлов вместо солей этих элементов и хитозана в составе питательных сред. Культивирование растений томата и перца на таких средах позволит повысить всхожесть семян растений. В проведенных исследованиях всхожесть семян перца увеличилась в среднем на 3–7%, семян томата в 1.4–2.8 раза по сравнению со всхожестью семян на стандартной питательной среде. Результатом выращивания растений на модифицированной NPs питатель-

ной среде является получение оздоровленного посадочного материала с улучшенными морфо-физиологическими показателями, особенно выраженными для корневой системы. При модификации поверхности NPs Fe хитозаном активность корневой системы достоверно увеличивается в 2.44 раза по сравнению с контролем. Полученный посадочный материал, перенесенный в теплицы, позволяет повысить урожайность томатов в среднем на 27.1%, а перца в 2 раза по сравнению с контролем.

Авторы выражают благодарность коллективу китайских коллег во главе с профессором Лю Минь Космической биотехнологической компании “Шэньчжоу” Китайской академии космических технологий за помощь в проведении экспериментов.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zheng T., Zhou Q., Tao Z. *et al.* // *Sci. Total Environ.* 2023. V. 904. P. 166643.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166643>
2. Rahman S.U., Wang X., Shahzad M. *et al.* // *Environ. Pollut.* 2022. V. 310. P. 119916.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119916>
3. Yuan J., Chen Y., Li H. *et al.* // *Sci. Rep.* 2018. V. 8 (1). P. 3228.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-18055-w>
4. Zeyruk V.N., Vasilieva S.V., Belov G.L. *et al.* // *Potato Res.* 2021. № 09518-9.
<https://doi.org/10.1007/s11540-021-09518-9>
5. Nechitailo G.S., Bogoslovskaya O.A., Ol'khovskaya I.P. *et al.* // *Nanotechnologies in Russia.* 2018. V. 13. № 3–4. P. 161.
<https://doi.org/10.1134/S1995078018020052>
6. Amgoth C., Phan C., Banavoth M. *et al.* Functionalization and Surface Modified Nanoparticles. Chapter Polymer Properties. February 2020. www.researchgate.net/publication/345380551
7. Оленин А.Ю. // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 4. С. 254.
8. Glushchenko N.N., Bogoslovskaya O.A., Shagdarova B.T. *et al.* // *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* 2021. V. 12 P. 035016.
<https://doi.org/10.1088/2043-6262/ac2b98>
9. Weingart J., Vabbilisetty P., Sun X.L. // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2013. V. 197–198. P. 68.
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2013.04.003>
10. Large D.E., Soucy J.R., Hebert J. // *Adv. Ther.* 2019. V. 2. P. 1800091.
<https://doi.org/10.1002/adtp.201800091>
11. Yoo J., Park C., Yi G. *et al.* // *Cancers.* 2019. V. 11. P. 640.
<https://doi.org/10.3390/cancers11050640>
12. Guerrini L., Alvarez-Puebla R.A., Pazos-Perez N. // *Materials.* 2018. V. 11. P. 1154.
<https://doi.org/10.3390/ma11071154>
13. Borowik A., Butowska K., Konkel K. *et al.* // *Nanomaterials.* 2019. V. 9. P. 973.
<https://doi.org/10.3390/nano9070973>
14. Leipunsky I.O., Zhigach A.N., Kuskov M.L. *et al.* // *J. Alloys. Compd.* 2018. V. 778. P. 271.
<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.11.088>
15. Zhao Hui, Liu Min, Chen Yu. The method for cultivation of plants using metal nanoparticles and the nutrient medium for its implementation. PCT. Patent № CN 108471713 B. 20.10.2020.
16. Murashig T., Skoog F. // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. P. 473.
17. Adebuseye O. Onanuga, Ping'an Jiang, Sina Adl. // *J. Agricultural Sci.* 2012. V. 4. № 3. P. 93.
18. Mann H.B., Whitney D.R. // *Ann. Math. Statist.* 1947. V. 18. № 1. P. 50.
19. Di Carlo G., Curulli A., Toro R.G. *et al.* // *Langmuir.* 2012. V. 28 (12). P. 5471.
<https://doi.org/10.1021/la204924d>