

«Сейфуллин окулары – 18(2): «XXI ғасыр ғылыми - трансформация дәуірі» халықаралық ғылыми - практикалық конференция материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения - 18(2): «Наука XXI века - эпоха трансформации». - 2022.- Т.І, Ч.ІІ.- С. 174-177.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПШЕНИЦЫ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА: ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

*Дыкман Л.А., д.б.н.,
Соколов А.О., инженер
Соколов О.И., д.б.н.,*

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», г. Саратов, РФ

Золотые наночастицы (ЗНЧ) находят применение в разнообразной биомедицинской практике в качестве носителей лекарственных веществ, усилителей/преобразователей оптического сигнала, иммуномаркеров и др. ЗНЧ относятся к наноматериалам, наиболее активно применяемым в медико-биологических исследованиях [1-3]. Из-за развития промышленных нанотехнологий случайное воздействие искусственно созданных наночастиц на клетки растений и животных становится все более вероятным, что требует анализа его последствий [4, 5].

Одной из первых статей, посвященных проникновению наночастиц в ткани и клетки растений, грибов и водорослей, была работа Navarro с соавт. [6]. Известно, что клеточная стенка (структура, специфичная для растений, грибов и водорослей) лимитирует поступление крупных молекул и частиц, позволяя проходить малым. Она служит первичным звеном во взаимодействии клетки с наночастицами и барьером для их проникновения. Диаметр пор (в среднем 5-20 нм) ограничивает размер наночастиц, способных проникнуть через клеточную стенку. Однако имеются данные о том, что наночастицы могут сами модулировать размер пор и, снимая таким образом жесткие структурные ограничения, доходить до плазмалеммы [6]. Предполагается, что на следующем этапе наночастицы могут проникать внутрь клетки путем эндоцитоза, однако у растений этот процесс изучен недостаточно. Имеются данные, что ЗНЧ проникают в ткани *Oryza sativa* L. и *Solanum lycopersicum* L. за счет как клатрин-зависимого, так и клатрин-независимого эндоцитоза [7].

Agora с соавт. [8], изучая влияние наночастиц на рост и урожайность горчицы *Brassica juncea* L. в полевом эксперименте, опрыскивали растения суспензиями ЗНЧ с разной концентрацией. Наличие ЗНЧ в тканях определяли с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии. Авторы

отмечали положительный эффект применения Au НЧ: длина и диаметр стебля, а также число листьев и побегов увеличивались, урожайность повышалась. Сходные результаты получены при проращивании семян горчицы на базальной питательной среде [9].

С помощью синхротронного рентгеновского микроанализа и трансмиссионной электронной микроскопии высокого разрешения показано, что ЗНЧ диаметром 3.5 нм проникают в растения *Nicotiana xanthi* через корни и перемещаются по сосудистой системе. Агрегаты ЗНЧ размером 18 нм обнаруживались только в цитоплазме клеток корня [10]. При воздействии мелких ЗНЧ через 14 суток наблюдались некротические повреждения листьев, но в присутствии крупных ЗНЧ не отмечали отличий от контроля. Отсутствие эффекта или незначительный физиологический эффект при очень высоких концентрациях ЗНЧ описаны для *Glycine max* L. [11], *Cucurbita pepo* (L.) [12] и ряда водных аквариумных растений [13, 14].

Показано увеличение высоты и диаметра стебля, количества листьев и побегов, повышение урожайности у горчицы и табака, увеличение всхожести семян и прирост биомассы у кукурузы и африканского проса под воздействием ЗНЧ. Имеются данные и об отрицательном влиянии ЗНЧ на растения: у табака наблюдали некротические повреждения листьев при воздействии мелких (3.5 нм) ЗНЧ. При этом добавление крупных наночастиц (18 нм) не приводило к эффектам, отличным от контроля. У лука фитотоксичность ЗНЧ наблюдалась в виде увеличения хромосомных aberrаций и снижения митотического индекса. На примере сои и тыквы продемонстрировано отсутствие влияния ЗНЧ на морфофункциональные характеристики растения.

Показано, что проростки ярового ячменя, культивируемые 2 недели на гидропонной среде, содержащей 1-10 мкг/мл ЗНЧ размером 10 нм, накапливали наночастицы и в листьях, и в корнях. При этом имел место концентрационный эффект: чем выше концентрация наночастиц в среде, тем более подавлялся рост листьев и корней. Однако при этом наблюдался эффект гормезиса – минимальная концентрация (1 мкг/мл) усиливала рост листьев в среднем на 10%, а корней в среднем на 60%.

Влияние ЗНЧ на прорастание семян пшеницы.

Семена пшеницы стерилизовали в 0.1% растворе диацета в течение 7 мин или растворе анолита АНК в течение 1 ч. После трехкратной отмывки дистиллированной водой семена инкубировали в растворе 15-нм ЗНЧ ($A_{520}=1$). Первую группу инкубировали в 10 мл дистиллированной воды с добавлением 1 мл ЗНЧ. Вторую группу инкубировали в 10 мл дистиллированной воды с добавлением 2 мл ЗНЧ. Третью группу инкубировали в 10 мл дистиллированной воды без добавления ЗНЧ (контроль). В каждой группе было по 10 семян, время инкубации 6 ч. После преинкубации семена проращивали в стерильных чашках Петри в течение 7-и суток при комнатной температуре. На седьмые сутки измеряли длину корней и листьев в каждой экспериментальной группе. По сравнению с контролем, длина корней и листьев достоверно уменьшалась и в первой и во

второй группам. Т.е., ЗНЧ, вероятно, оказывали токсическое действие на обработанные семена. Таким образом, преинкубация семян пшеницы с ЗНЧ приводила к ингибированию роста проростков, а выращивание проростков с 3-х по 7-е сутки в присутствии ЗНЧ приводило к стимуляции роста.

Влияние ЗНЧ на проростки пшеницы.

Семена пшеницы стерилизовали в 0.1% растворе диацета в течение 7 мин. После трехкратной отмывки стерильной дистиллированной водой семена выкладывали в чашки Петри на три предварительно стерилизованных бумажных фильтра, добавляли по 10 мл стерильной воды и проращивали при комнатной температуре. На третьи сутки одну группу проростков инкубировали в растворе ЗНЧ ($A_{520}=1$) в течение 1 ч и продолжали выращивать до 7-х суток в дистиллированной воде. Вторую группу проростков выращивали до 7-х суток в присутствии ЗНЧ ($A_{520}=1$), добавленных на третьи сутки в чашки Петри. Третья группа служила в качестве контроля. В каждой группе было по 20 семян. На седьмые сутки проращивания семян измеряли длину корней и первого листа в каждой экспериментальной группе. По сравнению с контролем, длина корней и первого листа достоверно увеличивалась во второй группе (выращивание проростков с 3-х по 7-е сутки в присутствии ЗНЧ). После четырехчасовой инкубации корня проростка пшеницы с ЗНЧ частицы золота, усиленные ацетатом серебра, наблюдались как в центральной зоне корня, так и в корневых волосках. Таким образом, показана способность ЗНЧ проникать через корневые волоски в проводящую систему корня пшеницы. При этом, после инкубации с ЗНЧ с предварительной обработкой ингибиторами икаругамицином, латрункулином В и метил- β -циклодекстрином не наблюдалось проникновения ЗНЧ в центральную зону корня проростков пшеницы и корневые волоски. В случае икаругамицина и метил- β -циклодекстрина ЗНЧ обнаруживались лишь на поверхности корневых волосков. В случае использования латрункулина В ЗНЧ в препаратах обнаруживались только в межклеточном пространстве корня. Таким образом, при использовании ингибиторов эндоцитоза ЗНЧ не проникали ни в клетки центральной зоны корня проростков пшеницы, ни в корневые волоски. Эти результаты подтверждают немногочисленные литературные данные о том, что процесс проникновения ЗНЧ в клетки растений является рецептор-опосредованным эндоцитозом. При этом, вероятно, важную роль в этом процессе играет актиновый цитоскелет.

Влияние ЗНЧ на белковый профиль апопласта корней проростков пшеницы.

Результаты электрофоретического анализа показывают, что в апопласте корней, выращенных в присутствии ЗНЧ, наблюдается изменение состава полипептидов в зоне 30-35 кДа. В частности, появляются новые полипептиды, и уменьшается содержание белков, присутствующих в контроле. Важно отметить, что общее содержание полипептидов также уменьшается. Уменьшение общего содержания белков отмечено также и в апопласте листьев у обработанных растений, по сравнению с контролем. Но в

апопласте листьев отсутствуют качественные и количественные изменения содержания полипептидов, по сравнению с контролем. Вместе с тем показано, что 48-часовое культивирование 7-суточных растений в присутствии ЗНЧ в концентрации 30 мкг/мл вызывает четко воспроизводимые изменения в составе низкомолекулярных белков с молекулярной массой 12-16 кДа. Мы не располагаем данными по идентификации выявленных белков, однако, как следует из литературных данных, именно в этой области молекулярных масс локализуются металлотионеины – низкомолекулярные белки, богатые цистеином, способные связывать и детоксифицировать ионы тяжелых металлов. Исходя из условий эксперимента, можно предположить, что препарат наночастиц выступает в данном случае как фактор, действующий аналогично ионам тяжелых металлов и индуцирующий похожую ответную защитную реакцию.

Список использованной литературы

1. Dreaden E.C., The golden age: gold nanoparticles for biomedicine [Text] / Alkilany A.M., Huang X., Murphy C.J., El-Sayed M.A. // Chem. Soc. Rev. - 2012. -V. 41. - P. 2740-2779.
2. Hendren C.O., Mesnard X., Dröge J., Wiesner M.R. Estimating production data for five engineered nanomaterials as a basis for exposure assessment // Environ. Sci. Technol. -2011. -V. 45. - P. 2562-2569.
3. Piccinno F., Gottschalk F., Seeger S., Nowack B. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world [Text] / J. Nanopart. Res. -2012. -V. 14. - P.1109.
4. Azhdarzadeh M., Nanotoxicology: advances and pitfalls in research methodology [Text] / Saei A.A., Sharifi S., Hajipour M.J., Alkilany A.M., Sharifzadeh M., Ramazani F., Laurent S., Mashaghi A., Mahmoudi M. // Nanomedicine (Lond.). -2015. -V. 10. - P. 2931-2952.
5. Carneiro M.F.H., Barbosa F., Jr. Gold nanoparticles: A critical review of therapeutic applications and toxicological aspects [Text] / J. Tox. Environ. Health B. -2016. -V. 19. - P. 129-148.
6. Navarro E., Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi [Text] / Baun A., Behra R., Hartmann N.B., Filser J., Miao A.-J., Quigg A., Santschi P.H., Sigg L. // Ecotoxicology. -2008. -V. 17. - P. 372-386.
7. Li H., Effects of surface ligands on the uptake and transport of gold nanoparticles in rice and tomato [Text] / Ye X., Guo X., Geng Z., Wang G. // J. Hazard. Mater. -2016. -V. 314. - P. 188-196.
8. Arora S. Gold-nanoparticle induced enhancement in growth and seed yield of *Brassica juncea* [Text] / Sharma P., Kumar S., Nayan R., Khanna P.K., Zaidi M.G.H // Plant Growth Regul. -2012. -V. 66. - P. 303-310.
9. Gunjan B., Zaidi M.G.H., Sandeep A. Impact of gold nanoparticles on physiological and biochemical characteristics of *Brassica juncea* [Text] / J. Plant Biochem. Physiol. -2014. -V. 2. 133.

10. Sabo-Attwood T., - Uptake, distribution and toxicity of gold nanoparticles in tobacco (*Nicotiana xanthi*) seedlings [Text] / Unrine J.M., Stone J.W., Murphy C.J., Ghoshroy S., Blom D., Bertsch P.M., Newman L.A. // *Nanotoxicology*. - 2012. -V. 6. - P. 353-360.
11. Falco W.F. *In vivo* observation of chlorophyll fluorescence quenching induced by gold nanoparticles [Text] / Botero E.R., Falcão E.A., Santiago E.F., Bagnato V.S., Caires A.R.L. // *J. Photochem. Photobiol. A*. -2011. -V. 225. - P. 65-71.
12. Hawthorne J., Accumulation and phytotoxicity of engineered nanoparticles to *Cucurbita pepo* [Text] / Musante C., Sinha S.K., White J.C. // *Int. J. Phytorem.* - 2012. -V. 14. - P. 429-442.
13. Glenn J.B., White S.A., Klaine S.J. Interactions of gold nanoparticles with freshwater aquatic macrophytes are size and species dependent [Text] / *Environ. Toxicol. Chem.* -2012. -V. 31.- P. 194-201.
14. Остроумов С.А., Токсичность наночастиц золота для растений в экспериментальной водной системе [Text] / Поклонов В.А., Котелевцев С.В., Орлов С.Н. // *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. -2014. -№ 3. - С. 19-23.