

А.Т. Серікбай*, Д.В. Агеев, А.М. Айткулов

*Карагандинский университет имени академика Е.А. Букетова, Караганда, Казахстан***Автор для корреспонденции: arailym_serikbai@mail.ru*

Анатомические показатели проростков *Pisum sativum* при воздействии макро- и наночастиц цинка

В Казахстане физико-химические свойства наночастиц были изучены, но физиологические свойства и токсичность на живые организмы ранее не рассматривались. В настоящей работе представлены результаты сравнительного исследования анатомии проростков *Pisum sativum*, подвергшихся воздействию макро- и наночастиц цинка различной концентрации (5, 10, 20 и 200 мг/100 мл). Проводилось изучение анатомии поперечных срезов вегетативных органов проростков гороха. Установлено, что макро- и наночастицы цинка вызывают изменения диаметра проводящих пучков, толщины внутренних и внешних тканей стебля и корня проростков. Установлены различия во влиянии наночастиц цинка на процессы жизнедеятельности растений в зависимости от их концентрации и проявлений их токсичности. Таким образом, определение путей и способов воздействия наночастиц металлов на живой организм — это чрезвычайно важная и актуальная работа, необходимая для установления научно обоснованных концентраций и размеров наночастиц в воде, воздухе или в составе различных материалов, с которыми контактирует человек.

Ключевые слова: макрочастицы, наночастицы металлов, цинк, *Pisum sativum*, анатомия, корень, проростки.

Введение

Многофункциональные свойства наночастиц (далее — НЧ) находят широкое применение не только в области технических направлений, но и в науках о жизни, в частности сельском хозяйстве. Чрезвычайно малый размер, особенности структуры и поверхностных характеристик наночастиц приводят к уникальным физико-химическим свойствам [1]. Наночастицы тяжелых металлов, так же как ионы наночастиц, обладают высокой способностью проникновения в корни растений, накопления в вегетативных органах, с дальнейшим участием в пищевых цепях [2]. Наночастицы оказывают как положительное, так и отрицательное влияние на рост и развитие растений [3].

Одними авторами показывается безопасность загрязнения окружающей среды наночастицами [4]. В ряде исследований наблюдается разнонаправленный эффект наночастиц металлов и их оксидов на рост, урожайность и физиологию растений, в том числе и сельскохозяйственных культур [5]. В целом, прогнозируется широкое применение наночастиц как альтернатива традиционных химических удобрений, из-за высокой скорости поглощения и проникновения НЧ в растения, при этом их попадание в объекты окружающей среды могут нести риски отрицательных последствий.

Для оптимального роста и развития растений необходимо присутствие в окружающей среде достаточного количества не только макроэлементов, но и микроэлементов, в том числе и цинка (Zn). Положительное действие Zn на растения было впервые доказано для кукурузы, затем ячменя и карликового подсолнечника [6]. Первые работы, связанные с изучением симптомов дефицита цинка у растений, описывали нарушение роста стеблей, в частности у томата. В основе механизмов цинк-зависимого нарушения роста вегетативных органов лежало снижение синтеза белка и крахмала, при сохранении производства сахара в тканях растений. Переизбыток цинка дозах от 200 до 500 мг/кг, в зависимости от вида растения, также вызывал негативный эффект [7].

Считается, что реакция растений на действие НЧ цинка зависит от вида растений, типа и размера наночастиц, а также от применяемой концентрации [8]. В исследованиях было изучено влияние НЧ ZnO на рост растений кукурузы. Отмечено, что применение биосинтезированных НЧ ZnO вызвало улучшение большинства биологических параметров, включая показатели роста растений, содержание белка и площадь листьев. Внесение НЧ ZnO в субстрат для выращивания огурцов положительно влияло на высоту растений с первых фаз вегетации на 50 % и более. Отрицательное воздействие цинка на рост растений отмечено для райграса, маша, пшеницы, редиса, рапса, салата, кукурузы, огурца и стевии.

Комбинированное воздействие НЧ Zn и регуляторов роста растений (IAA и GA3) на подсолнечник в условиях водного стресса [9] вызывало значительное увеличение содержания питательных веществ в листьях растения. Воздействие НЧ ZnO сказывается на развитии растений перца, как положительно так и отрицательно, в зависимости от концентрации вещества. Концентрации НЧ ZnO 1000 мг/л способствуют росту растений, увеличению количества и средней массы плодов, в то время как при концентрации 2000 мг/л НЧ ZnO оказывают негативное влияние на рост и развитие.

Таким образом, воздействие наночастиц даже на один и тот же вид растения может приводить как к положительному, так и отрицательному эффекту, в зависимости от концентрации изучаемого биологического показателя, стадии вегетации и других факторов. В связи с этим необходимо отдельно изучать каждый вид растения и каждую группу биологических показателей, действие НЧ Zn и его соединений.

Материалы и методы

С учетом важности как агрокультуры [10, 11], а также обоснованности использования в качестве тест-объекта при определении токсического действия веществ, нами было проведено исследование гороха посевного (*Pisum sativum* L., семейство *Fabaceae*). Изучалось анатомическое строение подземных (корни) частей растения, подвергшихся воздействию различных концентраций макро- и наночастиц цинка.

Для опытов применяли суспензии частиц Zn различной концентрации 5, 10, 20, 200 мг на 100 мл дистиллированной воды. Размерность частиц составляла 80–100 нм и 500–1000 нм (макрочастицы — далее МЧ). Наночастицы были синтезированы в Научно-исследовательском центре ионоплазменных технологий и современного приборостроения Карагандинского университета имени академика Е.А. Букетова. Макрочастицы цинка были приобретены у ООО «Интерхим» (Россия), марка ПЦР-1.

Для обработки макро- и наночастицами цинка семена гороха погружались в суспензию частиц различных концентраций и выдерживались в суспензии в течение 4 ч. В качестве контрольных образцов использовались семена, погруженные в дистиллированную воду.

Взвеси НЧ различных концентраций и объемом 10 мл наносились на фильтровальную бумагу в чашках Петри, в которые высевались семена в количестве 15 штук на одну чашку. Через 14 дней корневая часть проростков помещалась на ленты фильтровальной бумаги, которые свертывались в неплотный рулон и погружались в пластиковые стаканчики с дистиллированной водой объемом 150 мл (рис. 1).

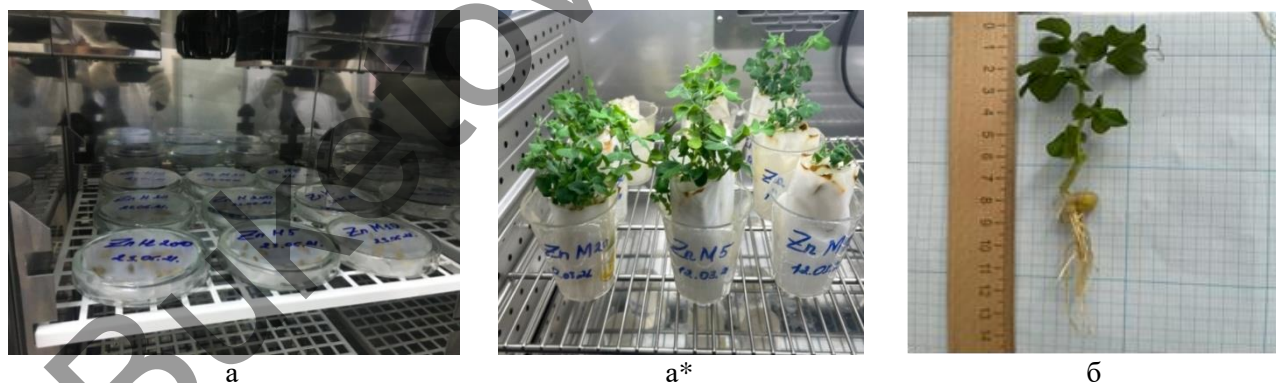


Рисунок 1. Семена в чашках Петри (а, а*), проростки после проращивания в рулонах фильтровальной бумаги (б)

Фиксацию проростков растений проводили по методике Страуса–Флемминга (спирт 92 %–глицерин–дистиллированная вода в соотношении 1:1:1). Анатомические препараты готовили вручную в соответствии с общепринятыми методиками М.Н. Прозиной, А.И. Пермекова, В.Н. Вехова [12, 13].

Для получения микрофотографий тканей растений использовался оптический микроскоп «Альтами» с цифровой камерой, с увеличением объективов $\times 64$, $\times 160$, обработку фотографий и измерения тканевых структур проводили в программе AltamyStudio 3.3.

Результаты и их обсуждение

На поперечном срезе корней проростков контрольных растений *P. sativum* четко выражено типичное строение, характерное для двудольных растений.

Корень на поперечном срезе округлый (рис. 2), по периметру расположена однослойная ризодерма с корневыми волосками. Под ризодермой расположен обширный участок коровой паренхимы, центральная часть занята радиальным проводящим пучком.

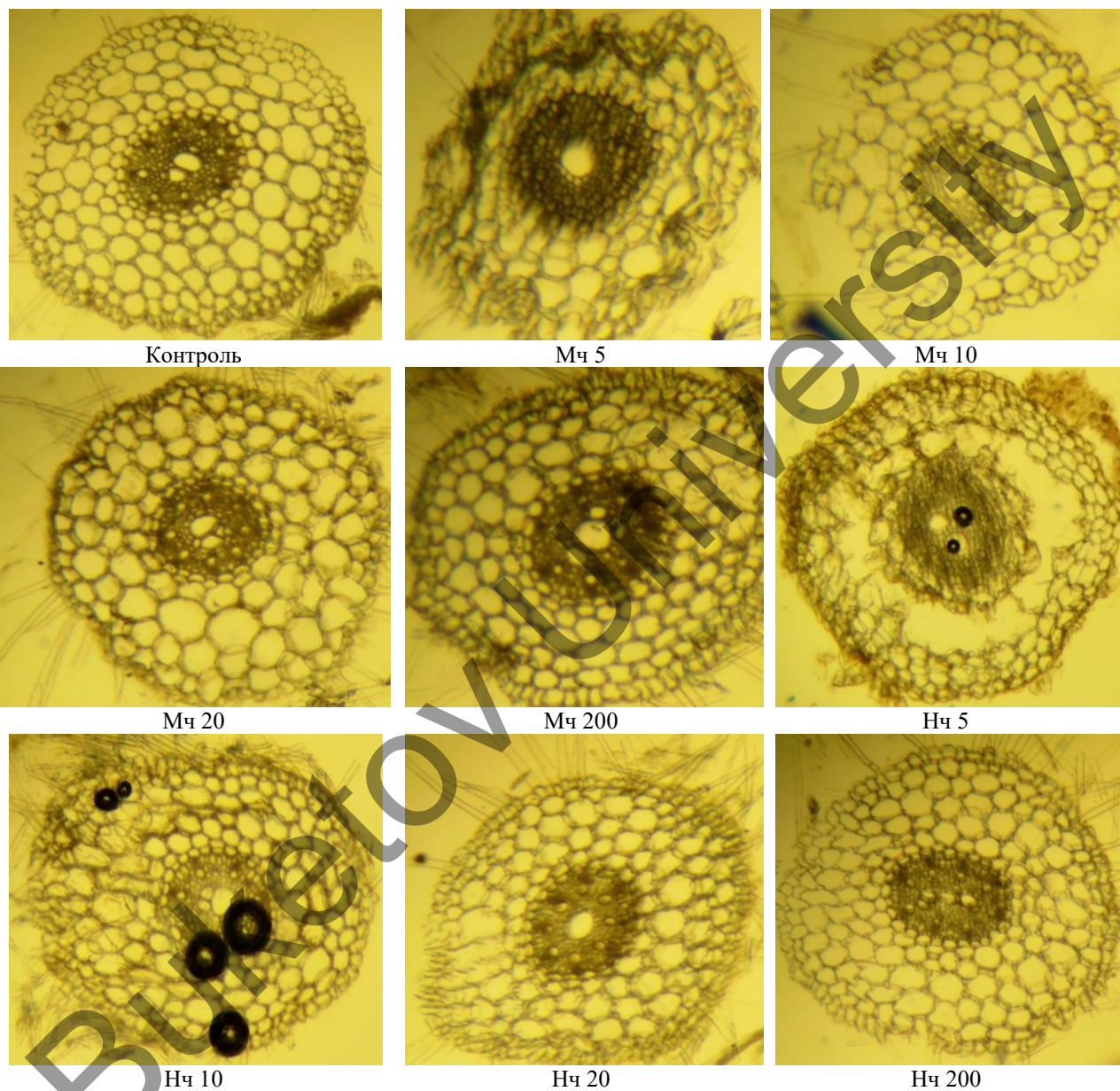


Рисунок 2. Поперечный срез корня проростков *Pisum sativum* (ув.×64)

Итоги замеров корней проростков гороха представлены в таблице ниже.

Анатомические показатели корня проростков *Pisum sativum* в зависимости от концентрации нано- и макрочастиц цинка (в мкм)

Вариант опыта	Толщина ризодермы	Толщина паренхимы	Толщина эндодермы	Диаметр сосудов ксилемы	Диаметр пучка	Диаметр корня
Контрольный вариант						
Контроль	0,18±0,01	6,28±0,52	0,11±0,01	0,25±0,04	7,25±0,12	16,91±0,55
Макрочастицы						
МЧ 5	0,22±0,09	5,57±0,63	0,15±0,05	0,50±0,19*	8,26±0,64	19,38±0,58
МЧ 10	0,20±0,05	7,25±0,76	0,23±0,07	0,32±0,13	7,60±0,68	19,16±0,73
МЧ 20	0,19±0,06	6,76±1,86	0,17±0,05	0,17±0,05	6,89±0,44	18,44±0,4
МЧ 200	0,18±0,08	6,39±0,72	0,19±0,10	0,39±0,57	5,81±1,08	18,09±1,68
Наночастицы						
НЧ 5	0,15±0,05	6,47±1,03	0,18±0,12	0,54±0,87*	6,81±0,78	17,44±1,43
НЧ 10	0,11±0,03*	5,67±1,06	0,15±0,07	0,17±0,13	7,42±0,84	16,58±2,31
НЧ 20	0,10±0,00*	5,40±0,73	0,11±0,03	0,25±0,11	5,83±0,50*	16,36±1,20
НЧ 200	0,11±0,03*	5,04±0,83	0,16±0,07	0,22±0,08	6,22±0,86	15,66±2,80

* *Примечание.* Достоверность различий экспериментальных данных по сравнению с контролем при $P \leq 0,05$.

Наши исследования показали, что по толщине ризодермы все варианты, обработанные МЧ цинка, не показали достоверных отличий от контроля. Результаты колебались от 0,18 до 0,22 мкм. Толщина ризодермы корня у проростков, обработанных наночастицами в варианте НЧ 5 (0,15 мкм), также достоверно не отличалась от показателей контроля, тогда как остальные варианты (размеры от 0,10 до 0,11 мкм) оказались достоверно ниже контрольных значений и показателей, полученных при обработке семян МЧ.

По толщине коровой паренхимы (от 5,04 до 7,25 мкм) проростки из разных вариантов обработки не отличались достоверно от контрольного варианта, причем сходные показатели отмечены как для МЧ, так и НЧ.

Не выявлено достоверных отличий от контроля по толщине эндодермы (от 0,11 до 0,23 мкм) во всех вариантах опыта по сравнению с контролем. Диаметр сосудов ксилемы проводящих пучков показал достоверное отличие по сравнению с контролем только в вариантах МЧ5 (0,50 мкм) и НЧ5 (0,54 мкм), остальные не отличались друг от друга и от контроля.

Диаметр проводящих пучков достоверно был ниже контроля в варианте НЧ 20, остальные не имели достоверных отклонений от контроля.

Измерение общего диаметра корня проростков гороха (от 15,66 до 19,38 мкм) также не показало достоверных отличий от контрольного варианта.

Заключение

Обработка проростков растений тяжелыми металлами, в том числе в форме наночастиц, может привести к изменению морфологической и анатомической структуры проростков, оказать отрицательное или положительное действие на жизнеспособность и дальнейшее развитие. Действие наночастиц цинка на настоящее время недостаточно исследовано.

Эксперименты данного исследования показали, что обработка семян перед посевом макро- и наночастицами цинка оказала эффект на изменение микроскопической структуры корня проростков гороха. Основные изменения были получены в структуре ризодермы. Так, обработка наночастицами цинка привели к снижению толщины ризодермы в сравнении с контролем и с вариантами обработки макро- и наночастицами.

Для остальных показателей внутреннего строения корня не были выявлены значительные изменения, отмечено достоверное увеличение или повышение структурных элементов при воздействии отдельных концентраций.

В целом, микроскопические структуры гороха оказались более устойчивыми к воздействию макро- и наночастицами цинка в изученных концентрациях. Полученные данные могут лечь в основу тестирования воздействия наночастиц тяжелых металлов на тест-объекты.

Исследования выполнены в рамках внутреннего гранта Карагандинского университета имени академика Е.А. Букетова «Сравнительный анализ воздействия наночастиц тяжелых металлов (цинка и оксида цинка) различных размеров на биологические показатели растительного организма» (2022 г.).

Список литературы

- 1 Tsonev T. Zinc in Plants / T. Tsonev, F.C. Libon // Emirates Journal of Food and Agriculture. — 2012. — Vol. 24(4). — P. 322-333.
- 2 Shrouf A. Hydroponics, Aeroponic and Aquaponic as Compared with Conventional Farming / A. Shrouf // Am. Sci. Res. J. Eng. Technol. Sci. — 2017. — Vol. 27 (1). — P. 247–255.
- 3 Нанотехнологии для окружающей среды и медицины. Обзор проекта. — 2018. Аналитическое экологическое агентство «Green women» (Казахстан). — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.greenwomen.kz/projects.htm>
- 4 Zhang J. Baseline-Free Damage Diagnostic Imaging Approach Relying on the Extraction of Converted Modes of Ultrasonic Guided Waves / J. Zhang, H. Xu, K. Zhou, Z. Yang, K. Liu, Y. Zheng, S. Ma, Zh. Wu // Journal of Aerospace Engineering. — 2021. — Vol. 34 (6). — 04021071. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)AS.1943-5525.0001319](https://doi.org/10.1061/(ASCE)AS.1943-5525.0001319)
- 5 Rajputa V.D. Effects of zinc-oxide nanoparticles on soil, plants, animals and soil organisms: A review / V.D. Rajputa // Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management. — 2018. — Vol. 9. — P. 76-78
- 6 Chen A. Evaluation of the effect of time on the distribution of zinc oxide nanoparticles in tissues of rats and mice: a systematic review / A. Chen, L. Shao, X. Feng, S. An, Y. Zhang, T. Sun // IET Nanobiotechnol. — 2016. — Vol. 10(3). — P. 97–106. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0006>
- 7 Du W. TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil / W. Du, Y. Sun, R. Ji, J. Zhu, J. Wu, H. Guo // Journal of Environmental Monitoring. — 2011. — Vol. 13. — P. 822-828. <https://doi.org/10.1039/c0em00611d>
- 8 Arruda S.C.C. Nanoparticles applied to plant science: a review / S.C.C. Arruda, A.L.D. Silva, R.M. Galazzi, R.A. Azevedo, M.A.Z. Arruda // Talanta. — 2015. — Vol. 131. — P. 693-705. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.08.050>
- 9 Ruttkay-Nedecky B. Nanoparticles based on essential metals and their phytotoxicity / B. Ruttkay-Nedecky, O. Krystofova, L. Nejdil, V. Adam // Journal of Nanobiotechnology. — 2017. — Vol. 15. — P. 33-35. <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0268-3>
- 10 Чурилов Г.И. Влияние нанопорошков железа, меди, кобальта в системе «почва–растение» / Г.И. Чурилов // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. — 2009. — № 12 (106). — С. 148–151.
- 11 Rizwan M. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: a critical review / M. Rizwan, S. Ali, M.F. Qayyum, Y.S. Ok, M. Adrees, M. Ibrahim, M.Z. Rehman, M. Farid, F. Abbas // Journal of Hazardous Materials. — 2017. — Vol. 322 (A). — P. 2-16. <https://doi.org/10.1016/j.hazmat.2016.05.061>
- 12 Зорина М.С. Определение семенной продуктивности и качества семян интродуцентов / М.С. Зорина, С.П. Кабанов // Методики интродукционных исследований в Казахстане. — Алма-Ата: Наука, 1986. — С. 75–85.
- 13 Вехов В.Н. Практикум по анатомии и морфологии высших растений / В.Н. Вехов, Л.И. Лотова, В.Р. Филин. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1980. — 196 с.

А.Т. Серікбай, Д.В. Агеев, А.М. Айтқулов

***Pisum sativum* өскіндерінің анатомиялық көрсеткіштеріне мырыштың макро және нанобөлшектерінің әсері**

Қазақстанда нанобөлшектердің физика-химиялық қасиеттері зерттелген, бірақ тірі организмдерге физиологиялық қасиеттері мен уыттылығы зерттелмеген. Елімізде бұл зерттеулер жүргізілген жоқ, бұл бағыттағы ғылыми зерттеулердің болашағы үлкен. Мақалада әртүрлі концентрациядағы (5, 10, 20 және 200 мг/100 мл) макро және нанобөлшектерге ұшыраған *Pisum sativum* өскіндері анатомиясының салыстырмалы зерттеу нәтижелері келтірілген. Асбұршақ өскіндерінің вегетативті мүшелерінің көлденең кесінділеріне анатомиялық зерттеу жұмыстары жүргізілді. Мырыштың макро және нанобөлшектері өткізгіш шоқтардың диаметрінің, өскіндердің сабағы мен тамырының ішкі және сыртқы тіндерінің қалыңдығының өзгеруіне әкелетіні анықталды. Мырыш нанобөлшектерінің өсімдіктердің тіршілік процестеріне олардың концентрациясына және уыттылығының көрінісіне байланысты әсер етуіндегі айырмашылықтар табылды. Осылайша, металл нанобөлшектерінің тірі ағзаға әсер ету жолдары мен тәсілдерін анықтау — бұл нанобөлшектердің судағы, ауадағы немесе адаммен байланыста болатын әртүрлі материалдардың құрамындағы ғылыми негізделген концентрациялары мен өлшемдерін анықтау үшін қажет және өте маңызды әрі өзекті жұмыс.

Кілт сөздер: макробөлшектер, нанобөлшектер, мырыш, *Pisum sativum*, анатомия, тамыр, өскіндер.

A.T. Serikbay, D.V. Ageev, A.M. Aitkulov

Anatomical parameters of *Pisum sativum* seedlings under the influence of macro- and nanoparticles of zinc

In Kazakhstan, the physicochemical properties of the nanoparticle were studied, but the physiological properties and toxicity to living organisms were not studied earlier. These studies have not been conducted in Kazakhstan, which presents broad prospects for scientific research. This paper presents the results of a comparative study of the anatomy of *Pisum sativum* seedlings exposed to macro- and nanoparticles of zinc of various concentrations (5, 10, 20 and 200 mg/100 ml). The anatomy of cross sections of vegetative organs of pea seedlings was studied. It has been established that zinc macro- and nanoparticles cause changes in the diameter of conductive beams, the thickness of internal and external tissues of the stem and root of seedlings. Differences in the influence of zinc nanoparticles on plant life processes depending on their concentration and the manifestation of their toxicity have been established. Thus, the determination of ways and means of the impact of metal nanoparticles on a living organism is an extremely important and relevant work necessary to establish scientifically-based concentrations and sizes of nanoparticles in water, air or in the composition of various materials with which a person comes into contact.

Keywords: macroparticles, nanoparticles, zinc, *Pisum sativum*, anatomy, root, seedlings.

References

- 1 Tsonev, T. & Libon, F.C. (2012). Zinc in Plants. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24(4), 322-333.
- 2 Shrouf, A. (2017). Hydroponics, Aeroponic and Aquaponic as Compared with Conventional Farming. *Am. Sci. Res. J. Eng. Technol. Sci.*, 27(1), 247–255.
- 3 (2018). *Nanotekhnologii dlia okruzhaiushchei sredy i meditsiny. Obzor proekta. 2018. Analiticheskoe ekologicheskoe agentstvo «Green women» (Kazakhstan) [Nanotechnology for the Environment and Medicine, project review, 2018. Analytical environmental agency “Green women” (Kazakhstan)].* Retrieved from <http://www.greenwomen.kz/projects.htm> [in Russian].
- 4 Zhang, J., Xu, H., Zhou, K., Yang, Z., Liu, K., Zheng, Y., Ma, S. & Wu, Zh. (2021). Baseline-Free Damage Diagnostic Imaging Approach Relying on the Extraction of Converted Modes of Ultrasonic Guided Waves. *Journal of Aerospace Engineering*, 34(6), 04021071. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)AS.1943-5525.0001319](https://doi.org/10.1061/(ASCE)AS.1943-5525.0001319)
- 5 Rajputa, V.D. (2018). Effects of zinc-oxide nanoparticles on soil, plants, animals and soil organisms: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 9, 76-78.
- 6 Chen, A., Shao, L., Feng, X., An, S., Zhang, Y. & Sun, T. (2016). Evaluation of the effect of time on the distribution of zinc oxide nanoparticles in tissues of rats and mice: a systematic review. *IET Nanobiotechnol.*, 10(3), 97–106. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0006>
- 7 Du, W., Sun, Y., Ji, R., Zhu, J., Wu, J. & Guo, H. (2011). TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil. *Journal of Environmental Monitoring*, 13, 822-828. <https://doi.org/10.1039/c0em00611d>
- 8 Arruda, S.C.C., Silva, A.L.D., Galazzi, R.M., Azevedo, R.A. & Arruda, M.A.Z. Nanoparticles applied to plant science: a review. *Talanta*, 131, 693-705. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.08.050>
- 9 Ruttkay-Nedecky, B., Krystofova, O., Nejdil, L. & Adam, V. (2017). Nanoparticles based on essential metals and their phytotoxicity. *Journal of Nanobiotechnology*, 15, 33-35. <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0268-3>
- 10 Churilov, G.I. (2009). Vliianie nanoporoshkov zheleza, medi, kobalta v sisteme «pochva–rastenie» [Influence of iron, copper, cobalt nanopowders in the soil-plant system]. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta — Bulletin of Orenburg State University*, 12 (106), 148–151 [in Russian].
- 11 Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M.F., Ok, Y.S., Adrees, M., Ibrahim, M., Rehman, M.Z., Farid, M. & Abbas, F. (2017). Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: a critical review. *Journal of Hazardous Materials*, 322(A), 2-16. <https://doi.org/10.1016/j.hazmat.2016.05.061>
- 12 Zorina, M.S. & Kabanov, S.P. (1986). Opredelenie semЕННОI produktivnosti i kachestva semian introdutsentov [Determination of Seed Productivity and Seed Quality of Introductants]. *Metodiki introduktsionnykh issledovaniy v Kazakhstane — Methods of introduction studies in Kazakhstan*. Alma-Ata: Nauka, 75–85 [in Russian].
- 13 Vekhov, V.N., Lotova, L.I. & Filin, V.R. (1980). Praktikum po anatomii i morfologii vysshikh rastenii [Workshop on the anatomy and morphology of higher plants]. Moscow: Izdatelstvo Moskovskogo universiteta [in Russian].